KOLLOID-ZEITSCHRIFT

100. Band August 1942 Heft 2

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Heidelberg und der Arbeitsstätte für Virusforschung der Kaiser-Wilhelm-Institute für Biochemie und Biologie, Entomologische Zweigstelle, Oppau.

Über die interferometrische Schichtdickenmessung an monomolekularen adsorbierten Eiweißschichten.

Von H. J. Trurnit und G. Bergold. (Eingegangen am 30. April 1942)

Daten über die Größe und Form von Eiweißmolekülen in Lösung sind bisher aus Messungen der Sedimentationsgeschwindigkeit und des Sedimentationsgleichgewichtes in der Ultrazentrifuge, ferner durch Messungen der Diffusionsgeschwindigkeit und des viskosen Verhaltens gewonnen worden. Ebenso liefert das optische Verhalten bei Strömungsorientierung wertvolle Ergebnisse. Eine weitere Möglichkeit, auf ziemlich direktem Wege Hinweise auf die Form von Eiweißteilchen zu erhalten, scheint die optische Untersuchung von adsorbierten monomolekularen Schichten zu sein.

Seitdem von Langmuir und Mitarbeitern (9, 10, 11, 21) die Möglichkeit des Aufbaus organischer Molekülschichten auf festen Trägern in orientiertem Zustand gezeigt wurde, hat man dieses Verfahren verschiedentlich benutzt, um solche aufgebrachten Mehrfachschichten als „optische Unterlage" bei Adsorptionsversuchen zu verwenden, d. h. Schichten von wenigen Ångström Dicke, die auf solche Unterlage adsorbiert werden, interferometrisch meßbar zu machen (22, 23). Ein auf Wasser gespreiteter Film von Stearinsäure wird unter geeigneten Bedingungen in einer solchen Anzahl von Lagen auf eine hochpolierte Metallplatte gebracht, daß für sichtbares Licht der Lichtweg in der Schicht gleich der halben Wellenlänge der verwendeten Strahlung wird. In diesem Fall tritt zwischen den an der Schichtoberfläche und den an der Grenze Metall/Schicht reflektierten Strahlen Auslöschung durch Interferenz auf. Kleine Schichtdickenänderungen in diesem Schichtdickengebiet, wie sie etwa durch Adsorption einer einzelnen Molekülschicht aus einer Lösung an der Platte zustande kommen können, bewirken eine empfindliche Verschiebung dieser Interferenz-Auslöschung. Wenn man mit monochromatischem Licht arbeitet, gibt es Intensitätsänderungen, bei Glühlicht dagegen Farbänderungen, wie sie aus Polarisationsversuchen bekannt sind.

Die bisher über solche Adsorptionsversuche erschienene Literatur ist bezüglich der experimentellen Einzelheiten sparsam, und die veröffentlichten Ergebnisse sind unter sich widerspruchsvoll und nicht einfach zu deuten. In Vorbereitung geplanter Untersuchungen an biologisch interessierenden Systemen hat der eine von uns (Trurnit) es sich zur Aufgabe gemacht, diese interferometrische Dickenmessung zu einer möglichst exakten Methode auszubauen. Als Objekte für Testmessungen wurden nun außer einigen hinsichtlich anderer Eigenschaften schon gut bekannten Eiweißkörpern (Hämozyanin, gelbes Ferment) auch noch Virusproteine von Insekten gewählt, deren Untersuchung sich der andere von uns (Bergold) widmet. Das Ergebnis der Messungen mit diesen, in sehr reinem Zustand verwendeten Substanzen wird im folgenden mitgeteilt. Versuche mit einer Reihe von anderen Proteinen, die in wenig reiner Form vorlagen, ergaben unklare Ergebnisse. Im ganzen wurden über 200 Einzelversuche durchgeführt.

Arbeitsweise.

Bezüglich des Aufbaus der optischen Unterlage haben wir uns zunächst an die ausführlichen Arbeiten von Blodgett (10) und Blodgett und Langmuir (11) gehalten und mit Trägerplatten aus stark chromiertem Nickelblech gearbeitet, als Filmmaterial saures Bariumstearat verwendet und hiermit Mehrfachschichten von sehr guter Reproduzierbarkeit bezüglich ihrer Dicke bekommen. Da die Technik der Spreitung in Deutschland nicht allzu bekannt ist, sei hier das Wesentliche darüber gesagt. Bezüglich der Einzelheiten wird auf die zitierte Literatur und eine demnächst in den „Ergebnissen der Physiologie" erscheinende Zusammenfassung des einen von uns (Trurnit) hingewiesen.

Ein flacher, rechteckiger Metalltrog (20×60 cm und 1 cm Tiefe), dessen Ränder unbenetzbar für Wasser gemacht sind, wird mit einer Lösung von $0{,}3 \cdot 10^{-4}$ m $BaCl_2$ und $4 \cdot 10^{-4}$ m $KHCO_3$ in Leitfähigkeitswasser so hoch gefüllt, daß der Wasserspiegel etwa 1 mm über dem Rand liegt. Die Wasseroberfläche wird von den sporran immer vorhandenen Verunreinigungen durch Abstreifen mit Glasbarren gereinigt und unmittel-

bar danach ein Tropfen einer Lösung von Stearinsäure in Benzol aufgebracht. Diese Lösung breitet sich auf der Oberfläche zum Teil aus, das Benzol verdunstet, und die Stearinsäure schiebt sich als zusammenhängender, monomolekularer Film über die Wasseroberfläche. Die Moleküle stehen in diesem Zustand mit der Karboxylgruppe dem Wasser zugewendet in gestreckter, mehr oder weniger steiler Stellung auf der Oberfläche. Die Tropfengröße ist so bemessen, daß etwa $^4/_5$ der Trogoberfläche von dem Film bedeckt werden. Als Begrenzung gegen das freie Fünftel dient ein vorher in geeigneter Weise an den Seitenrändern befestigter, unbenetzbar gemachter Seidenfaden. Nach Spreiten des Filmes wird nun auf die freie Wasseroberfläche hinter dem Seidenfaden ein kleiner Tropfen Ölsäure gebracht, von dem sich sofort ein monomolekularer Film allseitig bis zum Rande ausbreitet, der auf die Begrenzung überall einen Druck von etwa 30 Dyn/cm ausübt. Auf diese Art wird auch der Stearinsäurefilm unter diesen Druck gebracht, seine kettenförmigen Moleküle rücken eng zusammen und stehen nun nebeneinander senkrecht auf der Oberfläche bei einem annähernden Flächenbedarf von etwa 20,5 Å² pro Molekül. Wenn durch den Tauchvorgang Stearatfilm von der Oberfläche abgenommen wird und der Seidenfaden langsam zu der getauchten Trägerplatte hinwandert, liefert die kleine, auf dem Wasser liegende Ölsäurelinse ohne merkliche Verzögerung dauernd neuen monomolekularen Film nach; der Druck auf den Stearatfilm bleibt so immer konstant.

Wenn nach dieser Vorbereitung eine saubere Metall- oder Glasplatte vertikal durch die Oberfläche getaucht wird, durchtrennt sie den Film auf der Oberfläche. Unter Wasser existiert eine Grenzfläche Metall/Wasser. Beim langsamen Auftauchen aber heften sich die Stearinsäure-Moleküle (die in Abhängigkeit vom p_H teilweise Bariumstearat-Moleküle geworden sind), gefördert durch den Flächendruck mit ihren hydrophilen Enden an der Metalloberfläche fest. Auf dem aufgetauchten Teil der Platte sitzt eine flächen-äquivalente Menge des Filmes in der gleichen molekularen Anordnung wie auf der Wasseroberfläche. Beim Wiedereintauchen bleibt diese erste Schicht an der Platte haften, und eine zweite Filmschicht wird zwischen Wasser und erster Schicht von der Oberfläche aus mit in die Tiefe gezogen. Die Moleküle dieser Schicht wenden sinngemäß ihre hydrophoben Enden jetzt der Platte zu und bilden unter Wasser nun eine nach außen hydrophile zweite Schicht. Beim Wiederauftauchen faltet sich eine dritte Schicht auf die Platte usw. Über Wasser existiert also immer eine ungerade Anzahl von Schichten. Da es eine gewisse Zeit braucht, bis das Wasser beim Auftauchen zwischen Schicht und Metall oder Schicht und Schicht verdrängt wird, ist die Tauchgeschwindigkeit nicht beliebig. Wir haben mit 1—2 mm pro Sekunde erfolgreich gearbeitet. Daß der Film beim Tauchen wirklich in der gewünschten Weise aufzieht, erkennt man während des Arbeitens erstens an dem entsprechenden Wandern des Seidenfadens auf die Platte zu und zweitens an dem Verhalten des Randwinkels. Beim Auftauchen ist er außerordentlich klein, das Wasser zieht sich kapillar an der Platte hoch, beim Eintauchen ist er etwa 90°. Nach jedem Auftauchen kommen die Platten völlig trocken aus der Lösung (hydrophobe Oberfläche, CH_3-Enden).

Die Platten werden an einem Halter befestigt, der durch eine sauber gearbeitete Spindel durch drehende Bewegung von Hand auf und ab bewegt wird. Ein kleiner Hubzähler dient zur Kontrolle der Schichtenzahl.

Von der Blodgett-Methode sind wir hinsichtlich der Art der Messung der Schichtdicke abgewichen. Prinzipiell bestehen zwei Möglichkeiten, interferometrisch die Dicke solcher Schichten zu messen. Wenn ein optisch weniger dichtes Medium in Form einer homogenen Schicht auf eine polierte Metalloberfläche gebracht und Glühlicht auf die Platte geworfen wird, so wird bei bestimmter Wellenlänge und bestimmter Schwingungsrichtung des einfallenden Lichtes durch Interferenz der an der Oberfläche und Unterseite der Schicht reflektierte Strahl dann maximal ausgelöscht werden, wenn der Lichtweg im Medium gleich der halben Wellenlänge oder einem ungeraden ganzen Vielfachen davon ist (Fig. 1). Dabei tritt bei der Reflexion an der Grenze Schicht/Luft ein Phasensprung von 180° auf. Wenn unter der Schicht als Träger ein Glas größerer optischer Dichte wäre, würde für den an der Grenze reflektierten Strahl ein gleich großer Phasensprung auftreten, so daß bezüglich der Interferenz beider reflektierter Anteile die beiden Phasensprünge sich aufheben würden. Wenn als Unterlage aber Metall gewählt wird, komplizieren sich die Verhältnisse an der Grenze Schicht/Metall insofern, als dort ein in seiner Größe vom Einfallswinkel und vom Azimut der Schwingungsebene abhängiger Phasensprung[1]) auftritt. Er ist unabhängig von der Schichtdicke, geht bei konstantem Einfallswinkel als eine Konstante in die Rechnung ein, und da, wie später gezeigt wird, die Dicken-

[1]) Über einen weiteren hiermit nicht zu verwechselnden Phasensprung siehe im Text zu Fig. 1.

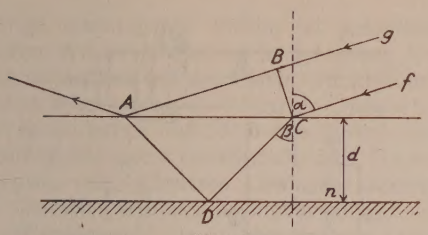


Fig. 1

Die beiden Strahlen g und f fallen unter dem Winkel α auf die Schicht auf. f wird bei C gebrochen, entsprechend dem Brechungsexponenten n des Schichtmaterials. Für Bariumstearat ist der Brechungsexponent für senkrecht zur Einfallsebene polarisiertes Licht $n_1 = 1{,}491$ [Blodgett und Langmuir (11)]. d ist die Schichtdicke. Der gebrochene Strahl f wird bei D an der Chromoberfläche reflektiert, und bei seinem Austritt aus der Schicht im Punkte A kommt es zur Interferenz zwischen den beiden Strahlen. BC ist die letzte ungebrochene Wellenfront. Von hier aus bis zum Punkte A ist der optische Weglängenunterschied Δ, von dessen Größe das Auftreten einer Auslöschung bei bestimmter Wellenlänge abhängt, gleich

$$(CD + DA)n - AB.$$

Dann ist

$$\Delta = 2\,d\sqrt{n^2 - \sin^2\alpha}\,.$$

[Ableitung bei Pohl, S. 70, (24)].

Für den Fall der Auslöschung ist:

$$\Delta = \frac{\lambda}{2}$$

(allgemein: $\Delta = (2m+1)\frac{\lambda}{2}$, wenn m eine Laufzahl ist), also:

$$d = \frac{\lambda}{4\sqrt{n^2 - \sin^2\alpha}}\,.$$

Der Nenner hat für $n = 1{,}49$ und $\alpha = 80^0$ den Wert 4,475. Im amerikanischen Schrifttum (11, 9) wird mit der gleichwertigen Formel

$$d = \frac{\lambda}{4\,n\cdot\cos\beta}$$

gearbeitet. Der im Text erwähnte Phasensprung von 180° beim Eintritt des Strahles f aus dünnem in dichtes Medium würde bewirken, daß Δ gleich λ wird und somit keine Auslöschung zustande käme. Er wird aber aufgehoben durch einen Phasensprung gleicher Größe, den die senkrecht zur Einfallsebene schwingende Komponente des Strahles g bei der Reflektion (unter Winkeln, die größer sind als der Polarisationswinkel) erleidet. Weil nun die parallel zur Einfallsebene schwingende Komponente diesen Phasensprung nicht erleidet, ist die Einschaltung des Polarisators in den Strahlengang notwendig. Wenn seine Durchlaßebene parallel zur Einfallsebene gedreht wird, läßt er nur Licht durch, das diesen Phasensprung nicht erlitten hat, die Weglängendifferenz ist dann λ. Die Platte zeigt keinerlei Stufen und ist blendend hell. Wenn kein Polarisator vorgeschaltet wird, mischt sich dieses Licht mit dem miteinander interferierenden Anteil, die Stufenunterschiede sind dann nur angedeutet und kaum meßbar.

bestimmung als Differenzbestimmung gemacht wird, fällt diese heraus. [Das N_0 in der Arbeit von Blodgett und Langmuir (11).]

Wenn man die Platte mit einfarbigem Licht bestrahlt und eine Schichtdicke wählt, für die die Interferenzbedingung gegeben ist, so bekommt man bei Änderung des Einfallswinkels um kleine Beträge eine empfindliche Veränderung der reflektierten Intensität in Abhängigkeit von der Veränderung der Lichtweglänge. Eine Messung der Schichtdicke, die ja durch Lichtweglänge und Einfallswinkel gegeben ist, wird daher durch Messung dieser beiden Größen ermöglicht. Es gibt also zwei verschiedene Arten der Schichtdickenmessung:

1. Es wird mit monochromatischem Licht gearbeitet, die Unterlage wird ungefähr von der richtigen Dicke gewählt und das Minimum der Intensität des reflektierten Lichtes (Lichtweglänge = halber Wellenlänge) durch Verändern und Messen des Einfallswinkels bestimmt.

2. Man bestimmt die kritische Lichtweglänge unter Konstanthaltung des Einfallswinkels dadurch, daß man die Wellenlänge sucht, bei der die maximale Auslöschung eintritt.

Langmuir und Mitarbeiter bedienen sich der ersten Methode, Jenkins und Norris (19) der zweiten, und zwar so, daß sie das Minimum der Intensität photoelektrisch bestimmen.

In jedem Fall erfolgt die Untersuchung so, daß zwischen die Platte und das Auge ein Polarisator (Kristall oder Filter) gebracht wird, dessen Durchlaßebene senkrecht zur Einfallsebene des Lichtes steht. Es treten dabei durch Auslöschung der senkrecht dazu schwingenden, stark blendenden Komponente, die in dem verwendeten Schichtdickengebiet von etwa 1000 Å kaum Auslöschung im Sichtbaren hat[2]), brillante Polarisationsfarben auf, wenn der Einfallswinkel etwa 80° beträgt (siehe Farbaufnahmen Fig. 5, Tafel I).

Man kann nun abweichend von früheren Untersuchern so verfahren, daß man nicht das Maximum der Auslöschung an einer Stufe bestimmt, sondern den Einfallswinkel oder die Wellenlänge so lange verändert, bis zwei nebeneinander liegende Stufen gleiche (minimale) Intensität des reflektierten Lichtes zeigen (Fig. 2). Für eine in der Mitte zwischen diesen beiden Schichtdicken liegende Dicke würde dann volle Auslöschung eintreten. Wir haben es vorgezogen, eine Kombination obengenannter Methoden anzuwenden, die es erlaubt, ohne lichtelektrisches Photometer auf subjektivem Wege hohe Meßgenauigkeit zu erreichen.

[2]) Siehe Text zu Fig. 1.

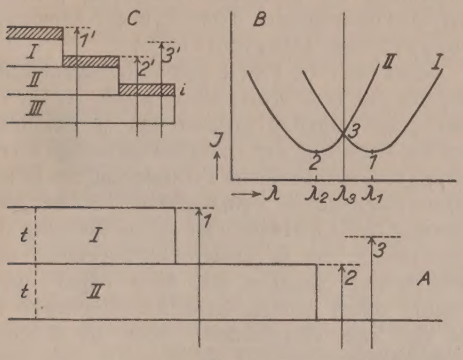


Fig. 2

In *A* sind schematisch im Querschnitt 2 Stufen des Films gezeichnet. Die Stufendicke sei *t*. Das Oberflächenniveau der Stufe I ist durch den Pfeil 1 angedeutet, das der Stufe II durch den Pfeil 2. Das Diagramm *B* zeigt für beide Stufen schematisch die Abhängigkeit der Intensität *J* des vom Film reflektierten monochromatischen Lichtes von der Wellenlänge für beide Stufendicken. Für die Wellenlänge λ_1 sei die Minimuminterferenzbedingung an der Stufe I gegeben, für λ_2 an der Stufe II. Beiderseits dieser Wellenlängen steigt die Intensität des reflektierten Lichtes für jede Stufe. Für λ_3 (im Schnittpunkt der beiden Kurven) haben beide Flächen gleiche Helligkeit. Kleine Veränderungen vom λ im Gebiet von λ_1 und λ_2 machen geringe Helligkeitsschwankungen, dagegen im Gebiet von λ_3 große Schwankungen, die gegenläufig sind und daher besonders gut erkannt werden können. Dieser Wellenlänge λ_3 entspricht ein Niveau 3 in *A*, das in der Mitte zwischen 1 und 2 liegt. In *C* ist verkleinert das Verhalten im Falle einer adsorbierten Schicht *i* gezeichnet. Die Einstellung der Wellenlänge für gleiche Helligkeit führt auf ein Niveau 3'. Die beiden Niveauhöhen 3 und 3' werden — in Ångström ausgedrückt — subtrahiert und ergeben die Dicke der adsorbierten Schicht. Bei unseren Versuchen werden meistens 3 Stufen verwendet (wie in *C* angedeutet), also solche Differenz zweimal gewonnen (I/II und II/III). Die unbedeckten Hälften der Stufen und die mit der adsorbierten Schicht bedeckten werden nebeneinander ohne Veränderung der Meßanordnung gemessen.

Wir haben auf unsere Platten (20×40 mm) meistens drei Stufen von 41/45/49 Schichten Bariumstearat aufgebaut, in einigen Versuchen auch fünf Stufen von je zwei Schichten Unterschied im gleichen Intervall. In diesem Schichtdickengebiet sind die entsprechenden Interferenzfarben zwischen orange 1. Ordnung und hellgrün/blau und die Farben des jeweils ausgelöschten Lichtes zwischen grünblau und dunkelrot. Die Breite jeder Stufe (Tauchtiefe) beträgt meistens 3,6 mm, die Länge entspricht der Plattenbreite.

In Fig. 3 ist die Form der verwendeten Platten dargestellt. Die Grundstufen (41/45/49 Stearatschichten) werden durch vertikales Eintauchen

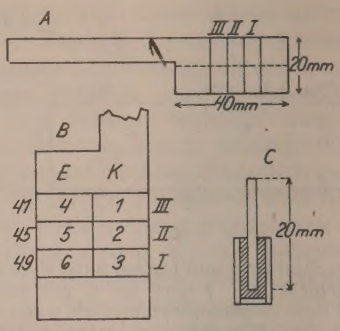


Fig. 3

A. Die Trägerplatte mit Stiel maßstäblich in der Lage gezeichnet, die sie während der Adsorption einnimmt. Bei *C* im Querschnitt in getauchtem Zustand in der Küvette dargestellt, die Lösung schraffiert. *B*. Die Trägerplatte vertikal in Meßstellung. I, II und III sind die drei Stufen der Stearatunterlage mit je 41, 45 und 49 Schichten. Bei der Adsorption von Eiweiß aus der Lösung durch Eintauchen bis zur gestrichelten Linie in *A* wird jede Stufe in eine Kontrollhälfte (*K*) und eine Eiweißhälfte (*E*) geteilt. Es entstehen so 6 Felder 1—6. Beim Messen werden die Wellenlängen gesucht, bei denen die Felderpaare $^1/_2$, $^2/_3$, $^4/_5$ und $^5/_6$ für jeden Paarling gleiche minimale Helligkeit haben. Diese 4 Meßpunkte ergeben 2 Differenzwerte ($^4/_5$ minus $^1/_2$ und $^5/_6$ minus $^2/_3$), die 2 Werten für die adsorbierte Schichtdicke entsprechen. Die Stufennumerierung stimmt mit der in Fig. 2 überein.

und Auftauchen der Platte aufgebracht, so daß die Grenzlinien zwischen den Stufen in der gezeichneten Weise waagerecht liegen. Nach dem Stufenaufbau wird die Platte durch völliges Eintauchen in Thoriumnitratlösung thoriert (siehe unten) und getrocknet. Die Adsorption der zu untersuchenden Eiweißmoleküle wird nun in der Weise vorgenommen, daß die Platte nach Art eines Beiles in waagerechter Lage zur Hälfte in eine kleine Küvette getaucht wird, deren Innenmaße 45×10×4 mm sind. Die Stufengrenzen stehen in dieser Lage senkrecht, und von jeder Stufe wird die Hälfte außerhalb der Adsorptionsflüssigkeit als Kontrolle belassen. Durch diese Art des Vorgehens sind wir im Gegensatz zu allen bisherigen Untersuchern in der Lage, die Dicke der adsorbierten Schicht auf der gleichzeitig als Kontrolle gemessenen Unterlage zu messen. Da die Plattendicke etwa 1,5 mm beträgt, bleibt als Flüssigkeitsoberfläche in der bis zum Rand gefüllten Küvette jederseits der Platte ein nur sehr schmaler Streifen, so daß ein etwa diese geringe Oberfläche verschmutzender Film aus Fett oder gespreitetem Eiweiß schon gleich nach dem Eintauchen der Platte auf dem untersten Millimeter adsorbiert und als solcher erkannt würde. Die

übrige eingetauchte Fläche ist jedenfalls frei davon. Wir haben aber solche Schichten, die nach der Adsorption auf der Platte mit bloßem Auge gut zu sehen wären, nie bemerkt. Diese schmalen Küvetten haben außerdem den Vorteil, daß zur Füllung nur 2 ccm erforderlich sind. Da wir mit 0,1 proz. oder dünneren Lösungen arbeiten, ist der Materialverbrauch bei einem solchen Versuch nicht größer als 2 mg Substanz. Es sei gleich bemerkt, daß wir auch mit 100fach verdünnteren Lösungen (gelbes Ferment) noch gleiche Schichtdicken bekommen haben, so daß der notwendige Substanzverbrauch für einen Versuch prinzipiell in der Größenordnung von 10 γ liegt.

Zum Zwecke der schnelleren und gleichmäßigeren Adsorption ist es vorteilhaft, für geeignete Rührung der Flüssigkeit in der Küvette zu sorgen. Zunächst haben wir die Platten an einer Stahlfeder befestigt und diese mit einem Transformator (50 Hertz) in Vibration versetzt (Amplitude etwa 0,5 mm). Da sich aber gelegentlich an der Adsorptionsgrenze Ränder zeigen, die bei der Messung stören, verfahren wir neuerdings so, daß wir die Platte ruhig in die Küvette tauchen und an der Stirnseite der Platte ein an der Stahlfeder befestigtes vertikal stehendes Glasstäbchen mit flachem Ende in der Flüssigkeit vibrieren lassen. Durch Kontrollversuch mit Tinte in Wasser haben wir uns von der Wirksamkeit dieser Rührung überzeugt.

Versuche über die notwendige Dauer der Adsorption haben gezeigt, daß bei ruhig eingetauchter Platte (ohne Rühren) nach etwa 1 bis 5 Min. immer die maximale Schichtdicke erreicht ist. Trotzdem haben wir zur Sicherheit fast alle Versuche mit einer Adsorptionsdauer von 30 Min. (mit Rühren) angestellt. Über den Begriff maximale Adsorption wird in der folgenden Diskussion gesprochen. Nach dem Auftauchen aus eiweißhaltigen Lösungen sind die Platten noch stärker benetzbar als nach dem Thorieren. Randwinkelmessungen wurden nicht angestellt. Die noch feuchte Platte wird sowohl nach dem Thorieren als auch nach dem Adsorbieren von Eiweiß mit Aqua bidest. vorsichtig, aber gründlich gespült. Das Trocknen der Platte an Luft erfolgt sehr schnell. Vor dem eigentlichen Messen haben wir uns durch Betrachten durch ein Polaroidfilter mit einer weißen beleuchteten Fläche als Lichtquelle immer von der Art und Gleichmäßigkeit der adsorbierten Schicht überzeugt und die zur Messung zu verwendende Seite ausgewählt. Die Platten werden nach dem Thorieren entweder unmittelbar nach dem Trocknen oder auch stundenlang später zu den Adsorptionsversuchen verwendet.

Als Monochromator stand uns das Gerät von Winkel-Zeiss zur Verfügung, wie es als Zusatz bei Polarisationsuntersuchungen verwendet wird. Bei diesem Gerät kann die Wellenlänge des austretenden Lichtes meßbar verändert werden. Die Ableseskala erlaubt eine Bestimmung mit einer Genauigkeit von $\pm$ 10 Å. Wir haben immer mehrere, mindestens drei Einstellungen und Ablesungen bei jeder Einzelmessung vorgenommen und den Mittelwert gebildet. Als Lichtquelle diente eine Punktlichtlampe von Osram, später eine Bogenlampe (10 Amp.). Von dem leicht divergierenden monochromatischen Lichtbündel wird 20 cm hinter dem Austrittsspalt eine Mattscheibe gleichmäßig beleuchtet. Diese dient bei der eigentlichen Messung als Lichtquelle. Das diffuse Licht der Mattscheibe fällt unter großem Einfallswinkel auf die zu messende Platte, die auf einer optischen Bank um eine vertikale Achse drehbar angeordnet ist (Fig. 4). Man betrachtet die Platte durch ein

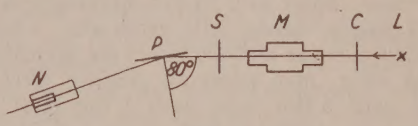


Fig. 4

Schema der Meßanordnung, von oben gesehen. *L* Lichtquelle, *M* Monochromator, *C* Kondensor, *S* Mattscheibe, *P* Trägerplatte mit adsorbierter Schicht, *N* Glan-Thompson-Prisma. Seine Durchlaßebene steht senkrecht zur Papierebene.

Glan-Thompson-Prisma, dessen Durchlaßebene senkrecht zur Einfallsebene des Beobachtungsstrahles liegt.

Fig. 3 erläutert auch den Gang der Messung. Es wird auf die oben beschriebene Art diejenige Wellenlänge gesucht, bei der zwei jeweils übereinander liegende Stufen gleiche Helligkeit zeigen. Die Wellenlängenwerte werden aufgeschrieben und nach der unter Fig. 1 angegebenen Formel in Schichtdickenwerte umgerechnet. Die Differenzen dieser fiktiven Schichtdickenwerte der Kontrollhälfte und der Meßhälfte ergeben den Dickenzuwachs. Um von der Art der Farbigkeit der Filme und den bei Beobachtung bei Glühlicht auftretenden Farbunterschieden einen Eindruck zu geben, haben wir einige Farbaufnahmen gemacht (siehe Fig. 5 auf Tafel I). Die notwendigen Daten finden sich im zugehörigen Text.

Die Gleichmäßigkeit unserer Aufbaufilme und die Meßgenauigkeit gehen daraus hervor, daß wir für die fiktive Schichtdicke unserer Kontrollstufen bei Verwendung der Standardstufenzahl 41/45/49 für 43 Stufen immer Werte bekommen, die zwischen 1165 und 1169 Å liegen. Bei guten

Filmen liegt der Dickenabstand zwischen den Stufen I/II/III immer bei 98 Å. Da der Stufenabstand 4 Schichtdicken beträgt, ergibt das für eine Schicht eine Dicke von 24,5 Å. Dieser Wert stimmt gut mit den in der Literatur angegebenen Werten überein[3]) (11, 15, 18, 19, 1, 26). Unser Wert gilt für Filme, die mit der Lösung a) nach Blodgett und Langmuir (11) bei einem p_H von 7,3 gebaut sind. Die Abweichung von diesem Wert 98 Å ist ein Maß für die Güte des verwendeten Filmes, die bei jeder einzelnen Platte kontrolliert wird. Wir bekommen also für jede Platte, da wir ja an zwei Stufengrenzen messen, jeweils zwei voneinander unabhängige Meßwerte. In vielen unserer Versuche stimmen diese bis auf 1 Å genau überein, und in den meisten der Versuche beträgt die Abweichung nicht mehr als 2—3 Å. Versuche mit größeren Abweichungen werden vorsichtiger bewertet. Bei unklaren Befunden wird auch die Rückseite der Platte genau wie die Vorderseite gemessen. Sonst wird zu den Messungen die optisch jeweils bessere Seite verwendet. Längeres Trocknen an der Luft verändert die Schichtdicke nicht mehr. Man erhält die gleichen Werte, ob man nach 5 Min. oder nach 1 Tag mißt. Die Grenze der Meßgenauigkeit ist gegeben durch die optische Qualität der Metalloberfläche (Politur) und die erreichbare Sauberkeit des monochromatischen Lichtes. Die Genauigkeit der Einzelablesung liegt jetzt bei $\pm$ 10 Å. Der Wert wird durch den Faktor 4,475 dividiert (siehe Text zu Fig. 1), so daß die Schichtdickenangaben etwa auf $\pm$ 2 Å stimmen. Da wir jeweils mehrere Ablesungen machen, kann die angegebene Genauigkeit als ziemlich gesichert gelten.

In der amerikanischen Literatur wird angegeben, daß die Stearatunterlage als solche zur Adsorption von Eiweißstoffen aus Lösungen nicht geeignet ist. Die Platten werden infolgedessen nach dem Aufbau der Stearatfilme in Lösungen von Thorium- oder Aluminiumsalz getaucht. Während sie unbehandelt völlig unbenetzbar aus Wasser auftauchen, zeigen sie eine leichte Benetzbarkeit nach dem Auftauchen aus Thoriumlösungen. Die Randwinkel verhalten sich in beiden Fällen entsprechend. Wir haben in unseren Versuchen nun gefunden, daß auch unthorierte Platten Eiweiß und auch Virusprotein aus Lösungen adsorbieren, aber in geringerem Maße und in weniger gleichmäßiger Art als thorierte Platten. Versuche über die Wirksamkeit des Thorierens haben gezeigt, daß die Platte mit einer 0,05proz. Lösung von Thoriumnitrat etwa 1 Min. lang behandelt werden kann, ohne daß dadurch eine Schichtdickenzunahme entsteht, die größer als 1—2 Å ist („Durchmesser" eines Thoriumions (2) ist 1,1 Å). Thorieren von 10 Sek. Dauer genügt nicht zu einer völligen Bedeckung der Stearatoberfläche mit Thoriumionen (unvollständige Adsorption von Eiweiß auf solchen Schichten). Bei manchen Versuchen mit längerem Thorieren (auch schon bei 1 Min.) zeigten sich Schichtdickenzunahmen von 5 bis 8 Å, deren Ursachen wir nicht erklären können. Um Fehler durch solche Zufälle zu vermeiden, haben wir immer die ganze Platte vor der Adsorption thoriert, so daß Kontroll- und Meßhälfte jedenfalls gleich dick waren.

Ergebnisse.

Gelbes Ferment. Das verwendete Material war eine Suspension von reinem gelbem Ferment in Ammonsulfatlösung[4]). Die Molarität betrug nach Angabe des Dahlemer Institutes $9{,}0 \cdot 10^{-8}$. Der Ammonsulfatgehalt war 21,5 Proz. Die Suspension wurde bei 4000 Touren zentrifugiert und der Niederschlag wieder mit 10 ccm aqua bidest. aufgefüllt. Es löste sich dabei fast alles. Eine ganz geringe Trübung wurde abzentrifugiert. Die so erhaltene Lösung diente zu den Versuchen. Wenn man das Molekulargewicht mit 82800 ansetzt, war die Lösung also 0,72proz. Der Ammonsulfatgehalt der Lösung war geringer als 0,01 Proz. Dialysiert wurde nicht mehr.

Tabelle I gibt die mit verschiedenen Verdünnungen dieser Lösung unter verschiedenen Bedingungen erhaltenen Werte der adsorbierten Schicht an. Wir haben die Meßwerte unter A in 3 Gruppen, und zwar nach der Konzentration, zusammengefaßt. Wenn man das erste niedrige Wertepaar 18/18 wegen der geringen Adsorptionsdauer nicht berücksichtigt, wäre keine Veranlassung, für 0,72 Proz. eine besondere Gruppe zu bilden. Das gleiche gilt für das letzte Wertepaar unter A (geringe Konzentration). Nun zeigt auch das fünfte Wertepaar in der 2. Gruppe eine starke Abweichung, so daß wir wohl annehmen müssen, daß gelegentlich aus unbekannter Ursache die Adsorption weniger vollständig ist. Es besteht somit zunächst keine Veranlassung, die erhaltenen Mittelwerte als typisch für die Konzentration anzusehen. Wir glauben also nicht, daß etwa durch die Verdünnung eine Dissoziation eintritt. Im Gegenteil betrachten wir die Tatsache, daß

[3]) Diskussion der mit verschiedenen Methoden ermittelten Werte bei Stenhagen (26). Die Werte sind: 24,1, 24,2, 24,4, 24,40, 25,0 und 25,1 Å.

[4]) Die Probe wurde uns liebenswürdigerweise von Herrn Prof. Warburg vom Kaiser-Wilhelm-Institut für Zellphysiologie in Berlin-Dahlem zur Verfügung gestellt.

Tabelle I.
Schichtdicken von gelbem Ferment.

A. Die Meßwerte sind einzeln wiedergegeben, um den Grad der Streuung zu zeigen. Daten für das Molekül: $V_{20} = 0{,}731$, $M_S = 82000$ [Keckwick und Pedersen (20)], $b/a = 3{,}84$ [Polson (25)]. Ungepufferte Originallösung und Verdünnungen. Siehe Text.

Konzentration Proz.	Dauer der Adsorption Min.	Dicke der Schicht Å
0,72	10	18 18
0,72	30	21 22
		mittel 19,7
0,072	15	23 22
0,072	30	25 28
0,072	60	24 24
0,072	60	26 27
0,072	70	19 18
0,072	70	25 24
		mittel 23,7
0,0072	70	22 23
0,0072	70	19 19
		mittel 20,7
		Gesamtmittel 21,4

B. Lösung von gelbem Ferment mit m/150 Puffer. 1,5 ccm Fermentlösung + 0,5 ccm Pufferlösung. Adsorptionsdauer 30 Minuten.

Konzentration Proz.	p_H	Dicke der Schicht Å
0,072	6,15	22
0,072.	7,0	19
0,072	8,1	21
		mittel 20,7
0,72	6,15	26
0,072	6,15	22
0,0072	6,15	22
		mittel 23,3

das zweite Wertepaar der 1. Gruppe und das erste Wertepaar der 3. Gruppe fast gleich sind und sehr benachbart dem Mittelwert der 2. Gruppe und dem Gesamtmittelwert, als Zeichen dafür, daß bei diesem Eiweißkörper die Adsorption unabhängig von der Konzentration (in diesem Konzentrationsgebiet) ist. Wenn man aus dem bei Polson (25) angegebenen Wert für das Achsenverhältnis unter der Annahme einer prismatischen Form (siehe unten) die zu erwartende Schichtdicke bei völliger Flächenbedeckung berechnet, ergibt das einen Wert von 29,5 Å. In unserer Tabelle finden sich Werte bis 28 Å und ein Mittelwert von 21,8 Å. Wir möchten diese Tatsache vorläufig als Bestätigung der Eignung unserer Methodik und auch der Berechtigung der Annahme ziemlich vollständiger Adsorption auffassen[5]).

Hämocyanin. Hämocyanin erschien uns als Testobjekt für die Brauchbarkeit unserer Methode zur Dickenmessung von Eiweißmolekülen deshalb als besonders geeignet, weil es einmal die Eigenschaft hat, im nativen Blut monodispers zu sein und andererseits bei p_H-Änderungen in Bruchstücke von $^1/_2$ und $^1/_8$ Molekulargewicht zu zerfallen (13). Dabei gibt es ein p_H-Gebiet, in dem hauptsächlich Achtelteile vorhanden sind. Wenn wir also bei der Adsorption aus einer Lösung, die nur Hauptkomponente enthält, eine dickere Schicht bekommen als aus einer solchen, die fast nur Spaltkomponente enthält, so ist damit, wenigstens qualitativ, die Brauchbarkeit dieser Methode gezeigt. Das verwendete Material stammte von gedeckelten Weinbergschnecken (Helix pomatia) der hiesigen Gegend. Das Blut dieser Tiere ist eine wässerige Lösung von wenig Salzen und Eiweiß. Dieses Eiweiß besteht zu 95 Proz. aus dem Atmungsprotein Hämocyanin (Molekulargewicht $8{,}9 \cdot 10^6$). Die restlichen 5 Proz. bestehen aus Spaltkomponenten dieser Riesenmoleküle und anderen niedermolekularen Anteilen [Brohult (12)]. Das Blut wird durch Herzpunktion gewonnen und hat bei den Wintertieren einen Eiweißgehalt von etwa 5 Proz., sonst bis herab zu 2 Proz. Das unverdünnte Blut hält sich bei 4° tagelang unverändert.

Im folgenden geben wir einige Zahlen wieder, die in einer Arbeit von Brohult (12) zusammengefaßt sind. Diese Arbeit enthält eine ausführliche Zusammenfassung des Schrifttums und die umfangreichste eigene Erfahrung über das Verhalten von Helix pomatia-Hämocyanin in der Ultrazentrifuge (Tabelle II). In der Tabelle sind verschiedene Molekularkonstanten über das Hämocyaninmolekül und seine beiden ersten Spaltprodukte (Hälften und Achtel) nach der Arbeit von Brohult zusammengestellt, und zwar in folgender Reihenfolge: Sedimentationskonstante, Diffusionskonstante, spez. Volumen, Molekulargewicht, Reibungsverhältnis, Länge der großen Achse (b) (nach Björnstahl und Snellman), Länge der kleinen Achse (a) (beide in Å) und Achsenverhältnis. Die Länge der kleinen Achse ist unter der Annahme eines Rotationsellipsoids berechnet. Diese in der Tabelle angegebenen Werte stammen alle (außer V_{20}) von eigenen Bestimmungen Brohult's und weichen von den

[5]) Eine neuere Nachuntersuchung würde vermutlich einen höheren Wert für das Achsenverhältnis ergeben (siehe Hämocyanin) und damit eine kleinere theoretische Schichtdicke.

Tabelle II. Molekularkonstanten des Hämocyanins und seiner Dissoziationsprodukte. Erläuterung im Text [Brohult (12)].

	$S_{20} \cdot 10^{13}$	D_{20}	V_{20}	M_S	f/f_0	b	a	b/a
Ganze . . .	103,0	1,07	0,738	$8{,}91 \cdot 10^6$	1,45	890	153	5,8
Hälften . . .	65,7	1,41	0,738	$4{,}31 \cdot 10^6$	1,40	890	106	8,4
Achtel . . .	19,7	1,77	0,738	$1{,}03 \cdot 10^6$	1,79	890	52	17,1

älteren in dem Werk von Svedberg und Pedersen (27) angegebenen zum Teil ab.

Abgesehen davon, daß manches darauf hindeutet, daß die Annahme einer kristallähnlichen prismatischen Form für derartige Eiweißmoleküle tatsächlich berechtigt erscheint, ist es aus Gründen der Einfachheit zur Deutung der Schichtdicken denktechnisch vorteilhafter, sich die Fläche mit Prismen statt mit Ellipsoiden bedeckt vorzustellen. Dabei ist folgende Überlegung anzustellen: Wir setzen immer dichteste Flächenbedeckung voraus und betrachten die Länge der Teilchen als gegeben, ebenso das Molekulargewicht und die Dichte (Tabelle II). Entweder haben sie nun in Wirklichkeit Prismengestalt, dann ergibt sich bei der Annahme eines quadratischen Querschnitts für die Hauptkomponente eine Schichtdicke von 108 Å und für die Achtelkomponente 37,5 Å. Oder sie haben die Form von Rotationsellipsoiden, dann hat die kleine Achse den in der Tabelle II angegebenen Wert.

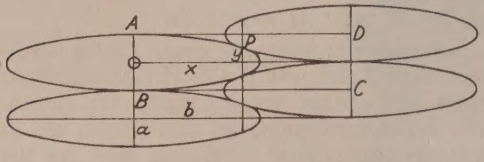


Fig. 6

Vertikale Parallelprojektion von 4 Ellipsoiden in einer der beiden möglichen dichtesten Packungen. b sei die lange Halbachse, a die kurze Halbachse eines Ellipsoids. Über der rechteckigen Fläche $ABCD$ liegt die Masse eines ganzen Moleküls (1 halbes und 2 viertel). Die Länge der Strecke AB ist gleich $2\,a$. Die Länge der Strecke BC ergibt sich aus folgender Überlegung: Die Ellipsoide sind bis zur Berührung im Punkte P zusammengeschoben. Die Koordinaten dieses Punktes seien x und y. y ist aus Symmetriegründen gleich $\frac{a}{2}$. Dann folgt aus der Ellipsengleichung, daß x gleich $\frac{b}{2}\sqrt{3}$ ist. Aus Symmetriegründen ist $BC = 2\,x$, also gleich $b\sqrt{3}$. Über einer Fläche von $2\,a\,b\sqrt{3}$ liegt also jeweils das Volumen eines Moleküls. Das Volumen ($1{,}1 \cdot 10^7$ Å^3) dividiert durch diese Fläche ($1{,}18 \cdot 10^5$ Å^2) ergibt dann die Schichtdicke von 94 Å. Diese Überlegung gilt für Ellipsen mit beliebigem Achsenverhältnis und beide Arten der dichtesten Packung. Die Zahlenangaben für Volumen, Fläche und Schichtdicke gelten für die Hauptkomponente des Hämozyaninmoleküls.

Wenn wir für diesen Fall nach der mittleren optischen Schichtdicke fragen, d. h. wenn wir fragen, wie hoch die Schicht würde, wenn die in dichtester Packung liegenden Ellipsoide zu einer homogenen Schicht zusammengedrückt würden, dann ergibt sich dafür ein Wert von 94 Å. Die Art der Berechnung zeigt Fig. 6 mit Text. Am Schluß der Arbeit werden alle geometrischen Daten noch einmal in einer Tabelle zusammengefaßt. Wie in der Diskussion gezeigt wird, ist es naheliegend, als Raumform der Teilchen der Hauptkomponente Prismen mit rechteckigem Querschnitt, also nicht die beiden eben erwähnten Raumformen, anzunehmen. Für diese Prismen ist die zu erwartende Schichtdicke 75 Å. Die von uns tatsächlich gefundenen Werte für die dickste Schicht liegen bei 71 Å (Fig. 7).

Während aus dem Reibungsverhältnis für die Länge der Hauptkomponente und die Länge der Achtel Werte von 700 und 810 Å berechnet wurden [Polson (25)], haben neue Messungen der Strömungsdoppelbrechung durch Björnstahl und Snellman (unveröffentlicht, nach Brohult) für Ganze, Halbe und Achtel den Wert von 890 Å ergeben. Wenn man daraus unter der Annahme einer prismatischen Form und eines quadratischen Querschnitts die Kantenlänge des Querschnitts berechnet, erhält man die Werte 108, 76,7 und 37,5 Å. Jedenfalls hofften wir, durch Adsorption aus einer Lösung von möglichst reiner $^1/_8$-Spaltkomponente und aus einer solchen von möglichst reiner Hauptkomponente Schichtdicken zu bekommen, die sich in „passender" Weise unterschieden. Eine gute Übereinstimmung wäre für die Brauchbarkeit der Adsorptionsmethode ebenso eine gute Stütze wie für die Berechtigung der Annahme länglicher Teilchen mit gleicher Spaltstücklänge.

Nach Eriksson-Quensel und Svedberg (14) liegt der Umschlagspunkt von Hauptkomponente in Achtel (Hälften sind nur gleichzeitig mit den Ganzen in einem kleinen p_H-Gebiet vorhanden), in dialysierten Lösungen bei p_H 8,2, im nativen Blut oder dialysierten Lösungen, denen $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ zugesetzt wurden, bei p_H 9,5. Viertel Bruchstücke sind niemals gefunden worden! (Über die Deutung dieser eigenartigen Tatsache

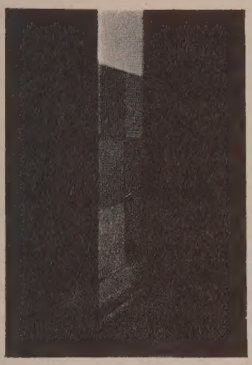


Foto 1

Stufenhöhe 98 Å. Gemessene adsorbierte Schichtdicke 71 Å. (Kontrolle rechts, Eiweiß links.) Hämocyanin, Originalblut, 2,1 %ig,. 5fach verdünnt. p_H = 7,5. Hauptkomponente. (Versuch 193, 14. 4.)

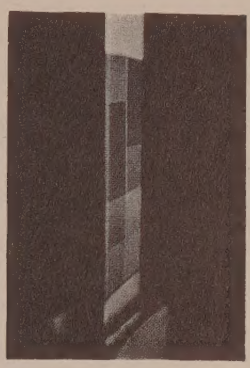


Foto 2

Stufenhöhe 49 Å. Gemessene Schichtdicke von Hämocyanin 39 Å. (Kontrolle links, Eiweiß rechts.) Das Blut von Versuch 193, aber 50fach verdünnt, p_H = 7,4.

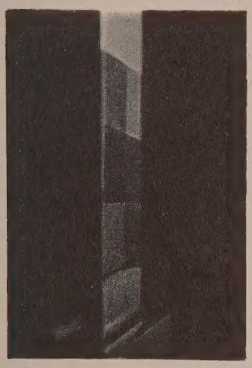


Foto 3

Stufenhöhe 98 Å.
Gemessene Schichtdicke von Virusprotein Ld.: 20 Å.
(Kontrolle rechts, Eiweiß links.)
0,03 %ig, p_H = 8,3.

Foto 4

Die gleiche Platte von Foto 3 mit der Kontrollseite schräg in unverdünnte Lösung von Ld getaucht (0,3 %ig). Dicke der keilförmigen Schicht (ganz links) ebenfalls 20 Å. Auf dieser Aufnahme ist die andere Seite der Platte dargestellt, so daß jetzt die Kontrollhälfte links, die Eiweißhälfte rechts ist.

Fig. 5. Farbfoto 1—4. Man sieht auf der unter sehr großem Einfallswinkel anvisierten Metallträgerplatte (80°) 3—5 Farbstufen, entsprechend 41, 45, 49 bzw. 41, 43, 45, 47, 49 Bariumstearatschichten mit polarisiertem Licht fotografiert. Die eine Hälfte dieser Stufen zeigt deutlich die der verschiedenen Dicke der adsorbierten Eiweißschichten entsprechenden Farbverschiebungen gegenüber den Kontrollhälften. Die jeweils „hellere" Hälfte der obersten Stufe bezeichnet die Kontrollhälfte der Platte. (Dagegen macht Schichtverdickung auf der untersten Stufe „Aufhellung".) Die Aufnahmen zeigen nicht die Brillanz der wirklichen Farben und haben nicht ganz die richtigen Farbwerte. Unten ist jeweils die Halterung zu sehen.

siehe weiter unten.) Nach Brohult hat sich folgendes ergeben[6]):

1. Eine Verdünnung von nativem Blut bei p_H 7,2 zeigt neben der Hauptkomponente schon einen hohen Prozentsatz erster Spaltkomponente und eine gewisse Menge von Molekülen mit Sedimentationsgeschwindigkeiten, die zwischen denen für Haupt- und Spaltkomponente liegen (Zwischengrößen?). Es ist nicht möglich, durch p_H-Änderung eine Lösung zu gewinnen, die nur Hälften enthält, es sei denn, daß man in einer Trennzelle zentrifugiert. In dem p_H-Gebiet von 4—9 ist die durch p_H-Änderung auftretende Dissoziation, die rechts und links vom isoelektrischen Punkt ($p_H = 5{,}05$) (28) auftritt, reversibel. In der Gegend des isoelektrischen Punktes findet man nur Hauptkomponente. Reine Achtelkomponente ist nur in einem sehr kleinen p_H-Gebiet zwischen 8,2 und 8,5 zu erhalten und auch nur, wenn die Salzkonzentration der Lösung zwischen 0,20 und 0,25 m liegt und die Eiweißkonzentration nicht unter 0,5 Proz. ist. Bei kleinerem p_H sind noch Hälften und Achtel beigemischt, und bei größerem p_H tritt ein weiterer Zerfall in nicht rekombinierende Spaltstücke auf. Im Zusammenhang mit unserer später vorgetragenen Überlegung bezüglich des Aufbaus des ganzen Moleküls aus den Spaltstücken ist folgende Angabe Brohult's wichtig: Die oben besprochenen Zwischengrößen zwischen Ganzen und Hälften treten im Sedimentationsdiagramm von Lösungen, die Ganze, Hälften und Achtel enthalten, zwischen Halben und Achteln nicht auf. Das scheint zu zeigen, daß die Art der Bindung der Achtel zu Hälften eine andere ist als die der Hälften zu Ganzen. Nochmals: Es treten nie Viertel auf!

2. Konzentrationsänderung, also Verdünnung des nativen Blutes bis herab zu 0,006 Proz. Eiweißgehalt, macht bei p_H 5,28 in Gegenwart von 0,1 m NaCl und 0,08 m Azetatpuffer keine Spur von Aufspaltung der Hauptkomponente. Dagegen erfolgt in Gegenwart von 0,4 m NaCl und p_H 5,74 bei gleichem Puffer eine weitgehende Aufspaltung zu Hälften, und zwar so, daß bei 1,37 Proz. Eiweißgehalt nur noch 75 Proz. Ganze und bei 0,015 Proz. Eiweißgehalt nur noch 56 Proz. Ganze gefunden werden.

3. Über den Einfluß der dissoziierenden Wirkung von Salzen berichtet Brohult sehr ausführlich. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß mit steigendem Salzgehalt auch in der Nähe des isoelektrischen Punktes die Aufspaltung der Ganzen zunimmt. Die untere Grenze der Molarität für NaCl, NH_4Cl, $MgSO_4$, unterhalb derer keine Aufspaltung eintritt, liegt bei 0,2 m. Bei Na_2SO_4 liegt sie viel tiefer, ebenso bei K_3FeCN_6 und Na_2FeCN_6 (alles in einem p_H-Gebiet zwischen 5 und 6). Wenn der Salzgehalt auf 1 m angestiegen ist (bei den zuletzt genannten Elektrolyten genügt schon 0,1—0,2 m), sind nur noch etwa 25 Proz. Ganze in der Lösung, und die übrigen 75 Proz. sind zu Hälften gespalten. Eine weitere Erhöhung des Salzgehaltes ändert an diesem Gleichgewicht nichts mehr, interessanterweise auch nicht eine p_H-Änderung in gewissen Grenzen!

4. Unter dem Einfluß größerer Konzentrationen von $CaCl_2$ zerfällt das Molekül in Achtel und kleinere Bruchstücke, unter dem Einfluß von Na_2SO_4 dissoziiert das Molekül zunächst, um dann bei einer Molarität von 0,7—1 wieder zu assoziieren.

5. Je geringer der Salzgehalt einer Lösung ist, um so größer ist das p_H-Gebiet, in dem die Hauptkomponente stabil bleibt. In den älteren Arbeiten von Svedberg und Mitarbeitern waren die dialysierten Lösungen, die zur Untersuchung kamen, bezüglich des Puffers 0,2—0,3 molar. Die Dissoziation begann von p_H 7,2 an. Brohult zeigt, daß eine Hämocyanin-Lösung, die gegen $1 \cdot 10^{-4}$ m NaOH vom p_H 8,9 dialysiert wurde, nur Hauptkomponente enthält. Wenn die gleiche Lösung gegen $2 \cdot 10^{-4}$ m NaOH (p_H 9,1) dialysiert wird, treten Spaltkomponenten auf.

6. Nicht nur kleine Salzkonzentrationen, sondern auch die Anwesenheit von Ca- oder Mg-Ionen (von 0,01 m ab) schieben die Beständigkeit der Hauptkomponente bis in die Gegend von p_H 9,0—9,5 hinaus.

7. Die Eigenschaft, unter den angegebenen Einflüssen in definierte Spaltstücke zu zerfallen, ist ein besonderes Merkmal der Atmungsproteine.

Bei eigenen Untersuchungen fanden wir folgendes:

Wenn man durch Pufferzusatz im Reagenzglas den kritischen Punkt langsam überschreitet, kann man einen Farbwechsel als ganz scharfen Umschlagspunkt schön beobachten. Lösung von Hauptkomponente zeigt auch noch bei sehr hohen Verdünnungen einen hellblauen Tyndall-Effekt. Bei der Spaltung schlägt die Farbe — auch infolge der größeren Anisodiametrie der Spaltstücke (Ungültigwerden der einfachen Voraussetzung der Rayleigh-Formel) — in ein blasses Blaugrün um. Wir haben Adsorptionsversuche mit verdünntem und unverdünntem nativem Blut gemacht und mit solchem, das entweder gegen einfach destilliertes Wasser im Eisschrank während mehrerer Tage oder im Elektrodialysator mit maximal 40 mA bis zum Endwert dialysiert war. Das native Blut hat p_H-Werte von 7,0 bis 8,5. Zur p_H-Änderung wurde mit Phosphatpuffer und Glykokoll-NaOH-Gemisch

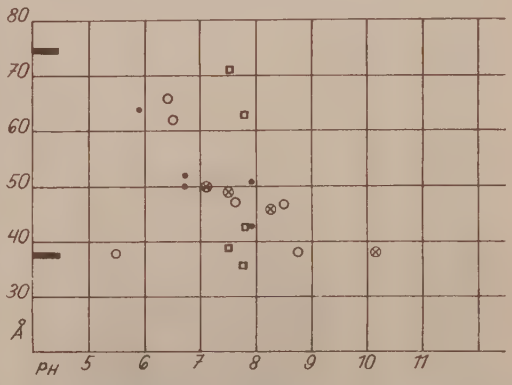


Fig. 7

Die adsorbierten Schichtdicken von Hämocyanin in Abhängigkeit vom p_H. Die Ordinate zählt die ge-

[6]) Da die Brohult'sche Arbeit nur schwer zugänglich ist, erscheint eine knappe Zusammenfassung gerechtfertigt.

fundenen Schichtdicken in Å. Die beiden Marken am Rand zeigen die berechneten Werte für die Hauptkomponente und die Achtelteile (siehe Tabelle V und Text). Kreise, gekreuzte Kreise und Punkte: Die Werte stammen von Versuchen aus dem Januar und Februar. Kreise: dialysiertes Blut mit $^1/_{100}$ m Puffer 1:5 verdünnt. Gekreuzte Kreise: Natives Blut mit mit $^1/_{15}$ m Puffer auf das gewünschte p_H gebracht, kaum verdünnt. Punkte: Natives Blut mit $^1/_{100}$ m Puffer 1:5 bis 1:10 verdünnt. — Der Eiweißgehalt des Blutes dieser Tiere war etwa 5proz. Der herausfallende Wert links unten stammt von einem nicht gepufferten Dialysat, das besonders lange in dem Elektrodialysator nach Brintzinger dialysiert wurde. Das p_H war (mit der Glaselektrode gemessen) 5,4, die Farbe trotzdem blaßgrün-blau, was für Spaltkomponente spricht. Der Meßwert bestätigte die Vermutung. — Vierecke: Diese Meßwerte stammen von Versuchen mit Blut von Mitte April. Es war 2proz. an Eiweiß, kein Pufferzusatz. Die beiden oberen Werte stammen von Verdünnungen 1:5, die drei unteren von Verdünnungen 1:50. — Alle wiedergegebenen Werte sind Mittelwerte aus den zwei bei jedem Versuch erhaltenen Meßwerten (siehe Tab. III).

nach Sörensen gearbeitet. Die Molarität des Puffers war meistens 0,01—0,003. Fig. 7 gibt die gefundenen Meßwerte wieder. Anschließend ist ein Versuchsprotokoll abgedruckt (Tabelle III), um die Art der Berechnung zu zeigen. Die erhaltenen Meßwerte (46,46) sind als Meßpunkt in Fig. 7 enthalten.

Tabelle III. Versuch 128, 27. Februar 1942. Hämocyanin, frisches Blut (4 Stunden bei 4° aufbewahrt), unverdünnt, etwa 5proz. 30 Min. mit Vibrator adsorbiert auf Stufenfilm 41/45/49 auf Chrom. p_H des Blutes 8,3 (mit Glaselektrode und Lyphanpapier gemessen). Siehe Fig. 2 und 3.

	λ_K mμ	λ_E mμ	$\frac{\lambda_K}{4{,}475}$ Å	$\frac{\lambda_E}{4{,}475}$ Å	$\frac{\lambda_E-\lambda_K}{4{,}475}$ Å
II/III	522	544			
	523	544			
	523	544			
	522,7	544	1168	1214	46
I/II	567	587	Δ =	Δ =	
	567	587	98	98	
	567	587			
	567	587	1266	1312	46

Insektenviren. Die Proteinlösungen der Insektenviren wurden auf folgende Art hergestellt: Gereinigte Polyeder von Seidenraupen Bombyx mori L. (Bm), Schwammspinnern Lymantria dispar L. (Ld) und Nonnenraupen Lymantria monacha L. (Lm) wurden durch Natronlauge bei p_H 10,5—11,0 gelöst und durch 2mal 30 Minuten Zentrifugieren bei 16000 Umdrehungen/Minute (Schwerefeld etwa 25000 g) gereinigt. Durch HCl wurden die Lösungen auf p_H 8,5 gebracht. Die NaCl-Konzentration war etwa 0,01 m. Die Konzentration der so erhaltenen klaren, gelblich bis bräunlichen Polyederproteinlösungen wurde durch Mikrokjeldahl-Bestimmungen festgestellt (Tabelle IV). Über die gefundenen Schichtdicken wird einiges in der Diskussion gesagt. Siehe auch Foto 3 und 4 in Fig. 5.

Tabelle IV. Schichtdicken von Virusproteinen.

Art des Materials	Konz. Proz.	p_H	Schichtdicke Å
Ld	0,03	8,3	20
Ld	0,3	8,3	20
Bm	0,09	8,3	17
Lm	0,075	8,3	16
		mittel:	18,3

Die Bezeichnung des Materials und Herstellung der Lösungen ist im Text erläutert.

Diskussion.

Vor dem Eingehen auf Besonderheiten bei den einzelnen untersuchten Substanzen und auf die Bedeutung der Ergebnisse möchten wir einige allgemeine Erörterungen vorausschicken.

Auf eine optisch, geometrisch und chemisch definierte Unterlage — eben dem Fettsäureschichtenkristall — wird zum Zwecke der besseren Adsorption eine Thoriumionenschicht aufgebracht. An den für die Messung wichtigen geometrischen und optischen Eigenschaften ändert dieser höchstens einige Ångström dicke Film nichts Wesentliches. Über die Änderung der chemischen Eigenschaften der Adsorptionsfläche läßt sich mehr bildhaft nur sagen, daß offenbar durch die freien Valenzen der 4-wertigen Thoriumionen die Adsorptionskraft vergrößert wird. Wir nehmen an, daß die ganze Schichtoberfläche dicht mit Thoriumionen besetzt ist[7]). Auf die so präparierte, in die Probelösung getauchte Fläche setzen sich nun gemäß der Nachlieferung durch Diffusion und Konvektion die nativen Eiweißmoleküle. Wir wissen zunächst nichts darüber, ob sie durch die an der Grenzfläche fest/flüssig vorhandenen Kräfte nennenswert deformiert werden, auch nicht, ob sie später beim Auftauchen aus der Lösung durch die nun entstehenden Kräfte an der Grenze Luft/Schicht deformiert werden, oder ob die dabei erfolgende Trocknung sie verändert. Auf

[7]) Diese Annahme soll später durch Messung der dabei auftretenden, sehr erheblichen Änderung des Volta-Potentials geprüft werden.

diese Fragen würden unsere Ergebnisse wertvolle Antworten bedeuten, wenn es sich herausstellt, daß sie mit denen anderer Methoden bezüglich der molekularen Dimensionen gut übereinstimmen.

Wenn wir aus der interferometrisch gewonnenen „Schichtdicke" der adsorbierten Schicht auf die „Dicke" des einzelnen Moleküls schließen wollen, müssen wir erstens annehmen, daß die ganze Fläche lückenlos besetzt ist, und zweitens gedanklich die Teilchen aus der Kugel- und Ellipsoidform in eine Würfel- und Prismenform umwandeln (siehe oben). Die Frage nach dem Grade der Flächenbedeckung ist besonders bei langgestreckten Teilchen wichtig. Für wirklich kugelförmige Teilchen — die es aber auch unter den sogenannten Sphäroproteinen offenbar kaum gibt, wenn man die aus dem Reibungsverhältnis berechneten Achsenverhältnisse für annähernd real hält — ist es nicht schwer vorzustellen, daß eine vollständige Flächenbedeckung zustande kommt. Dagegen bei Teilchen von ausgesprochen länglicher Form (gelbes Ferment: b/a 3,8 [Polson], Hämocyanin: Hauptkomponente b/a 5,8, Spaltkomponente 17,1 [Brohult]) denkt man unwillkürlich an Streichhölzer, die man aus einiger Höhe auf einen Tisch fallen läßt. Nur ein Teil wird mit der ganzen Länge dem Tisch aufliegen, die anderen finden nicht genügend Platz dazu und berühren nur mit einem Ende die Unterlage. Und es bleibt in unserem Falle fraglich, ob diese Teilberührung für das Haftenbleiben genügt, oder ob die schon adsorbierten Teilchen etwas ihre Lage verändern können durch das Zwischendrängen der teilweise adsorbierten. Man könnte also vermuten, daß mit wachsendem Achsenverhältnis die Flächenbedeckung immer schlechter wird. Wir haben einen vorläufigen Versuch gemacht, eine Entscheidung dadurch herbeizuführen, daß wir die Teilchen durch Strömungsorientierung in geordneter Weise nebeneinander zur Adsorption zu bringen suchten. Es ergab sich keine Abweichung gegenüber den anderen Versuchen. Und da eine vorhandene Orientierung in der adsorbierten Schicht sich polarisationsoptisch nachweisen lassen müßte, was nicht gelang, nehmen wir an, daß die bisher erzielte Strömungsgeschwindigkeit zu einer Ordnung in der Grenzschicht nicht ausreicht. Die Frage muß also ebenfalls offen bleiben. Daß übrigens die Teilchen sich bei der Adsorption — abgesehen von besonderen Fällen — mit ihrer großen Seitenfläche der Unterlage anlegen werden und sich nicht senkrecht stellen, erscheint aus energetischen Gründen selbstverständlich.

Tabelle I und Fig. 7 zeigen, daß für gelbes Ferment und für die Spaltkomponente des Hämocyanins die gefundenen Werte in der Nähe der berechneten liegen. Die Differenz beim gelben Ferment kann nach dem oben Gesagten sowohl daran liegen, daß die Flächenbedeckung nicht vollständig ist oder aber daran, daß durch Adsorption oder Trocknung eine geringe Deformierung erfolgt.

Daß für die Hauptkomponente des Hämocyanins der gefundene Wert (71 Å) größer ist als für die Spaltkomponente, deutet auf die qualitative Brauchbarkeit der Methode als Ganzes hin. (Dickere Moleküle geben dickere Schichten.) Daß er aber abweichend von den beiden anderen Werten so weit unter dem berechneten liegt (108 Å), muß eine besondere Bedeutung haben. An der Flächenbedeckung kann es nicht liegen, da ja bei der Hauptkomponente mit ihrem kleineren Achsenverhältnis die „Sperrigkeit" kleiner und damit die relative Flächenbedeckung c. p. besser sein müßte als bei der Spaltkomponente. Auch ist nicht anzunehmen, daß hinsichtlich der Trocknung wesentlich andere Verhältnisse als bei der Spaltkomponente vorliegen. Es bliebe zu fragen, ob etwa durch die bei der Adsorption wirksamen Kräfte ein Zerfall der Hauptkomponente — ein Auseinanderfalten — auftritt. Durch die Arbeiten von Brohult wissen wir ja, daß ein solcher Zerfall der Hauptkomponente auch durch Ultraschall oder ultraviolettes Licht erfolgen kann. Es wäre also möglich, auch die Grenzflächenkräfte im Fall der Adsorption als hinreichende Ursache anzusehen. Eine quantitative Überlegung läßt aber eine andere Möglichkeit als näherliegend erscheinen. Wenn wir unter Berücksichtigung der oben aus der Brohult'schen Arbeit angeführten Erfahrungen als experimentell gegebene Tatsachen folgendes ansehen: 1. Hauptkomponente und Achtelteil haben gleiche Länge, 2. ihre Molekulargewichte verhalten sich etwa wie 8 zu 1, 3. es sind niemals Viertelteile gefunden worden, 4. der Zerfall in Hälften erfolgt leichter und darum früher als in Achtel — so scheint es notwendig, die Frage zu beantworten: Wie kann man sich 8 gleichlange, stäbchenförmige Teilchen so zusammengesetzt denken, daß ihr Verhalten beim Zerfall möglichst ungezwungen zu erklären ist, und weiter: Wie stimmt die bei unseren Versuchen gefundene jeweilige Schichtdicke mit der vermuteten Zusammensetzung überein? Die nebenstehende Fig. 8 soll unseren Gedankenversuch erläutern. Die Anordnung der 8 Teilchen in 2 Viererreihen nebeneinander erscheint von allen möglichen Anordnungen bei weitem als das

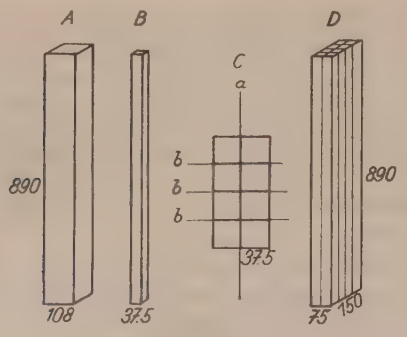


Fig. 8

Darstellung des im Text beschriebenen Gedankenversuchs. *A* maßstäbliche Darstellung der Hauptkomponente, *B* der Achtelkomponente, jeweils mit quadratischem Querschnitt. *C* Querschnitt der Hauptkomponente in der Form und Aufteilung, wie sie im Text als denkmöglich beschrieben wird. *a* die Spaltebene mit den schwächeren, *b* die drei Spaltebenen mit den stärkeren Bindungskräften. *D* Darstellung der Hauptkomponente nach diesem Bauschema. Wenn man gestreckte, nebeneinanderliegende Aminosäureketten als Bauelemente der Prismen, den Abstand der Aminosäuren innerhalb einer Kette mit 3,5 Å und das mittlere Molekulargewicht einer Aminosäure mit 125 annimmt, baut sich die Achtelkomponente (*B*) aus 36 Ketten von je 220 Aminosäuren auf. — Lufttrockene Hämocyaninkristalle enthalten nach Hernler und Philippi (17) 11,5 Proz. Wasser.

nächstliegende. Die Grenzfläche zwischen den beiden Viererreihen wäre als durch schwächere Kräfte gebunden zu denken. Nach dem Auseinanderfallen der beiden Hälften sind dann Viererpäckchen mit jeweils 3 Grenzschichten vorhanden, deren Bindungskräfte stärker als die der Hälften sind und deren Zerfallswahrscheinlichkeit unter sich gleich groß ist. Das deutet auch das Fehlen der Viertel. Nach Tiselius (29) wandern in einer Lösung, die alle drei Komponenten enthält, die Ganzen und Halben gleichschnell, und die Achtel bleiben etwas zurück (Faktor 1,10). Das deutet zunächst nur auf einen Unterschied hinsichtlich der Ladung der Oberflächen, bedeutet aber wohl allgemein einen Unterschied in der Oberflächenbeschaffenheit. Außerdem spricht das oben angeführte Fehlen der Zwischengrößen zwischen Hälften und Achteln im Sedimentationsdiagramm (Brohult) für unsere Annahme. Wenn man die Länge des ganzen Prismas mit 890 Å als gegeben ansieht, ist bei bekanntem Volumen die Größe des Querschnitts ebenfalls gegeben. Es bleibt nun zunächst dem freien Ermessen überlassen, diese Flächengröße in einem Quadrat oder irgendeinem Rechteck unterzubringen. Die bisher bekannten experimentellen Daten gaben zunächst keinen Anhalt darüber (es sei denn, daß man die verschiedenen Werte der Länge für Haupt- und 2. Teilkomponente nach Polson [von Brohult neu berechnet zu 1130 und 820 Å] bei angenommener tatsächlich gleicher Länge in diesem Sinne deutet). Jedenfalls ist sicher, daß bei der vorgeschlagenen Anordnung der Achtelteilchen nicht die Hauptkomponente und die 2. Spaltkomponente gleichzeitig quadratischen Querschnitt haben können! Man kann nicht 8 Quadrate zu einem Quadrat zusammensetzen. Wenn wir für die Spaltkomponente den quadratischen Querschnitt annehmen (Kantenlänge 37,5 Å), so bekommen wir als Querschnitt für die Hauptkomponente bei der Anordnung in 2 Viererreihen ein Rechteck von 75×150 Å²[8]). Die Dicke der zu erwartenden Schicht bei der Adsorption bei idealer Flächenbedeckung wäre also im Falle der Spaltkomponente 37,5 Å und im Falle der Hauptkomponente 75 Å. Die extremen Werte unserer gefundenen Schichtdicken liegen bei 38 und 71 Å, stimmen also in erster Näherung mit dieser Vorstellung überein.

Es fällt auf, daß der gefundene Wert für die Spaltkomponente höher als der berechnete liegt, und man sollte doch gerade erwarten, daß bei diesen besonders stäbchenförmigen Teilchen die Flächenbedeckung nicht sehr gut ist. Daß trotzdem ein Wert von 38 Å gefunden wurde, ist nach den Befunden von Brohult sogar zu erwarten, da, von ganz besonderen Bedingungen abgesehen, in solchen Lösungen immer noch ein Gehalt von etwa 25 Proz. Hauptkomponente beigemischt ist. Die Adsorption dieses Anteils erhöht etwas die mittlere Schichtdicke. Andererseits kann der etwas zu kleine Wert für die Hauptkomponente durch die unvollständige Flächenbedeckung oder durch das Vorhandensein von Hälften und Achteln in Lösungen mit einem p_H von über 6,0 befriedigend gedeutet werden. Auch bleibt zu bedenken, daß die Annahme eines genau quadratischen Querschnittes für die Spaltkomponente nur erfolgt ist, um ein einfaches Bild unserer Vorstellung zu geben. Man kann die gefundenen und berechneten Werte mit den zu erwartenden Graden der Flächenbedeckung für Haupt- und Spaltkomponente und mit den vermutlichen Anteilen der beiden Komponenten in der Lösung noch besser in Zusammenhang bringen, wenn man für die Spaltkomponente einen etwas von der

[8]) Teilchen mit rechteckigem Querschnitt werden im Schwerefeld langsamer sinken, als Teilchen gleicher Länge und mit gleich großem aber quadratischem Querschnitt. Bei der Berechnung nach Polson bekommt man dann eine größere scheinbare Länge (siehe oben).

Quadratform abweichenden Querschnitt annimmt. Derartig weitgehende Vorstellungen haben aber beim gegenwärtigen Stand der Erfahrung keinen Wert[9]).

Tabelle V.

Berechnete mittlere optische Schichtdicken von monomolekularen Hämozyaninschichten unter der Annahme dichtester Packung bei verschiedenen Raumformen der Teilchen. Die obere Zahl bezieht sich jeweils auf die Hauptkomponente, die untere auf die Achtelkomponente. Grundlage der Berechnung sind die in Tabelle II angegebenen Molekulargewichte der beiden Teilchen, das spez. Volumen und die Größe der langen Achse. Alle Werte in Ångström. Siehe auch Text zu Fig. 6.

	große Achse	kleine Achsen	mittl. opt. Schichtdicke
Kugel	275 133	275 133	168 83
Würfel	222 107	222 107	222 107
Rotationsellipsoid	890 890	153 52	94 32
Prisma mit quadratischem Querschnitt	890 890	108 38	108 38
Prisma mit rechteckigem Querschnitt 1 : 2	890 890	150/75 —	75 —

In Tabelle V geben wir eine Übersicht über die zu erwartenden Schichtdicken der Hauptkomponente für verschiedene Raumformen. Alle Zahlen in der Tabelle außer dem Wert 890 Å sind berechnet aus Molekulargewicht, Dichte (und langer Achse, 890 Å). Die in Fig. 6 dargestellte Berechnungsart der Schichtdicke für Rotationsellipsoide zeigt noch einmal deutlich, daß mit unseren Meßergebnissen nur die beiden letzten Schichtdickenwerte (75, 38) vergleichbar sind und daher die Annahme des flachen Prismas als Raumform der Hauptkomponente berechtigt ist. Alles gilt aber nur unter der Annahme der annähernd vollständigen Flächenbedeckung. Da mit dieser Annahme unsere Berechnungen und Vorstellungen stehen und fallen, ist es unsere nächste Aufgabe, einen Versuch zu machen, die an der Platte wirklich adsorbierte Menge Eiweiß durch direkte Bestimmung zu ermitteln. Man könnte vielleicht so vorgehen, wie es Mc Bain und Mitarbeiter (5) bei ihren Untersuchungen getan haben.

Die ganze Überlegung soll nur einen Gedankenversuch zeigen, aus den gegebenen experimentellen Tatsachen möglichst zwanglos eine befriedigende Deutung zu gewinnen. Wir möchten noch einmal betonen, daß wir die Verhältnisse bei der Adsorption bezüglich der Flächenbedeckung für bisher zu ungeklärt halten, um solchem Gedankenversuch mehr als einen heuristischen Wert beizumessen. Andererseits ist aber auch die Deutung des Reibungsverhältnisses als bedingt durch längliche Form der Teilchen zunächst eine reine, aber zweckmäßige Fiktion gewesen, solange nicht die oben angeführten neuen Untersuchungen mit Strömungsdoppelbrechung auf diesem ganz anderen Wege eine wertvolle Stütze geliefert haben. Abschließend stellen wir fest, daß unsere hier mitgeteilten Ergebnisse offenbar in dem gleichen Sinne für die Existenz von länglichen Teilchen sprechen.

In diesem Zusammenhang erscheint es notwendig, an zwei übermikroskopische Aufnahmen von Hämocyanin (Vergr. 75000fach) zu erinnern, die v. Ardenne (3) nach einem Präparat von Freksa veröffentlicht hat. Auf der ersten sind neben einigen annähernd runden Teilchen viele längliche und einige sehr langgestreckte zu sehen. Die zweite Aufnahme, für die ein Tropfen 100fach größerer Konzentration aufgetrocknet wurde (10^{-5} g/ccm), zeigt eine dichte wolkige Schicht mit Aussparungen, die als annähernd monomolekular bezeichnet wird. In die Aussparungen hinein ragen feine längliche Balken und Vorsprünge. v. Ardenne deutet sie als „starke Deformationen der Moleküle (bis zur Form gedehnter Fäden) an den Reißstellen". Wir vermuten, daß gerade diese feinen Balken die Einzelmoleküle sind. Die in unserer Tabelle V angegebenen Seitenlängen für den Querschnitt des rechteckigen Prismas von 150 und 75 Å wären bei 75000facher Vergrößerung 1,1 und 0,55 Millimeter. Genau von dieser Größe ist die Dicke der feinen Balken in der zweiten Aufnahme bei v. Ardenne. Bei sorgfältiger Betrachtung zeigt die Aufnahme auch an vielen Stellen ein feines Balkenwerk mit gleicher Balkendicke über den aufgehellten Stellen. Wir möchten die langen Teilchen der ersten Aufnahme der Hauptkomponente und die mehr runden Teilchen der ersten Nebenkomponente „zuordnen". Man muß bedenken, daß nach den oben zitierten Erfahrungen (Brohult) durch die hohe Verdünnung ein Aufspalten in Hälften zu erwarten ist. Es ist interessant, daß v. Ardenne bei einer Diskussion und

[9]) Ein prismatisches Modell — ähnlich dem hier vorgeschlagenen — haben 1926 Gorter und Grendel (16) auf ganz anderer experimenteller Grundlage für das Hämoglobinmolekül entwickelt.

Auswertung dieser gleichen ersten Aufnahme in einer späteren Arbeit (4) für die rundlichen Partikel aus Durchmesser und Dichte ein Molekulargewicht von $4 \cdot 10^6$ berechnet. Aus Sedimentationsversuchen hatte sich damals ein Wert von $6{,}7 \cdot 10^6$ errechnen lassen. v. Ardenne spricht von „leidlicher Übereinstimmung". Der neuere und vermutlich bessere Wert von $8{,}9 \cdot 10^6$ ist nun etwa das Doppelte des von v. Ardenne für die rundlichen Partikel angegebenen Wertes. Diese würden also, unserer Vermutung entsprechend, Hälften sein, und die v. Ardenne'sche Abschätzung wäre besser, als er selbst annahm. Die Frage, warum die Hälften auf der ersten Aufnahme als rundliche bis ovale Teilchen erscheinen und nicht länglich sind (was ja nach allen anderen Untersuchungen zu erwarten ist), bleibt offen. Die Adsorption in dichter Packung aus Lösung oder das Festhaften an der Thoriumunterlage könnte in höherem Maße fixierend auf die Form wirken als das Antrocknen einzelner Teilchen auf der Kollodiumfolie.

Insektenviren: An anderer Stelle konnte gezeigt werden, daß die weiterhin von uns untersuchten Virusproteinlösungen der Insektenpolyeder hochinfektiös und nach elektrophoretischen (8) und Ultrazentrifugenversuchen (7) einheitlich sind. Die Sedimentationskonstanten sind für alle drei Virusarten ungefähr gleich und betragen etwa $10 \cdot 10^{-13}$ cm sec^{-1} dyn^{-1}. Daraus kann man unter der Annahme eines kugelförmigen Moleküls nach Bestimmung des partiellen spezifischen Volumens (V) einen Moleküldurchmesser von etwa 76 Å berechnen. Die Molekulargewichte liegen bei etwa 180000. Weiterhin konnte festgestellt werden (6), daß sich die Insektenviren auf Wasseroberflächen ausgezeichnet spreiten, wobei eine Abhängigkeit der Größe der charakteristischen Spreitungsfläche vom p_H und der Salzkonzentration gefunden wurde.

Wie stimmen nun die in dieser Arbeit gefundenen Werte mit den bereits bekannten überein? In Tabelle IV sind die Dicken der adsorbierten Virusproteinschichten zusammengestellt. Wir sehen daraus, daß keine Übereinstimmung mit den nach den Sedimentationsversuchen erhaltenen Moleküldurchmessern vorhanden ist. Der Unterschied zwischen dem theoretischen Wert für die mittlere optische Schichtdicke bei Kugelform und dichtester Packung (44 Å) zu dem erhaltenen von etwa 20 Å ist beträchtlich. Er könnte durch einen Formfaktor des Virusproteinmoleküls von $\frac{b}{a} = 12$ erklärt werden[10]).

Vorläufige Untersuchungen der Strömungsdoppelbrechung haben aber durch ihren negativen Ausgang gezeigt, daß zumindest kein großer Unterschied der Molekülachsen zu erwarten ist. Doch sind vielleicht die geringen angewandten Strömungsgeschwindigkeiten zur Orientierung dieser kleinen Moleküle nicht ausreichend. Solange der Formfaktor nicht durch die in Gang befindlichen Diffusionsmessungen bestimmt ist, kann über die Nichtübereinstimmung nicht weiter diskutiert werden.

Abschluß.

Wenn die bisherigen physikalischen Untersuchungsmethoden an hochmolekularen Stoffen zu Angaben über das Molekulargewicht der Teilchen und über die Abweichung von der Kugelform nach einer Raumrichtung hin führen, so glauben wir, daß die in dieser Arbeit beschriebene Anwendung der interferometrischen Schichtdickenmessung von Molekülen dazu beiträgt, die mit den anderen Methoden gewonnenen Ergebnisse zu prüfen und von gewissen Stoffen nun auch Angaben über das räumliche Verhalten der beiden anderen Achsen zu gewinnen. Die Untersuchung der Strömungsdoppelbrechung ergibt unter Umständen ebenfalls Angaben darüber. Gleiche Ergebnisse dieser beiden ganz verschiedenen Methoden würden den gewonnenen Werten einen hohen Grad von Wahrscheinlichkeit verleihen. Darüber hinaus können mit der beschriebenen Technik gleichzeitig wertvolle Einblicke in das Verhalten der untersuchten Substanzen an Grenzflächen gewonnen werden.

Zusammenfassung.

Es wird das Prinzip der interferometrischen Dickenmessung an dünnsten Schichten beschrieben und seine Anwendung auf monomolekulare, aus Lösungen adsorbierte Eiweißschichten in Einzelheiten erläutert. Die hier entwickelte Methode erlaubt eine Dickenmessung unabhängig von den Verhältnissen in und an der unteren Grenze der „optischen Unterlage".

Zur Untersuchung gelangten: gelbes Ferment, Hämocyanin von Helix pomatia und Viruseiweiße von Insekten.

Die gemessenen Schichtdickenwerte stimmen im Fall des gelben Fermentes und der Spaltkom-

[10]) Der Formfaktor ergibt sich aus dem Teilchenvolumen und der Länge der kleinen Achse eines Rotationsellipsoides, welche bei 20 Å Schichtdicke 32,6 Å beträgt; hieraus große Achse und Formfaktor.

ponente des Hämocyanins mit den zu erwartenden befriedigend überein, wenn man die mit anderen Methoden gefundene Teilchenlänge als lange Achse eines Prismas einsetzt und eine einigermaßen vollständige Flächenbedeckung durch liegende Prismen annimmt.

Die Tatsache, daß unter den Spaltstücken des Hämocyanins nie Viertel gefunden werden, führt gemeinsam mit anderen Befunden zu der Vorstellung, daß das ungespaltene Hämocyaninmolekül sich aus acht in zwei Viererreihen nebeneinander liegenden Stäbchen zusammensetzt, wobei innerhalb der Viererreihe der Zusammenhang fester ist als zwischen den beiden Viererreihen. Der gefundene Wert für die Schichtdicke der Hauptkomponente stimmt mit dieser Vorstellung überein.

Unsere Befunde und Berechnungen werden benutzt, um elektronenmikroskopische Aufnahmen von Hämocyaninteilchen und ihre Deutung durch v. Ardenne zu diskutieren.

Für die Virusproteine von Insekten wird eine Schichtdicke gefunden, die bei dichtester Packung nur durch einen Formfaktor von etwa 12 erklärt werden könnte. Da Messungen für den Formfaktor noch nicht vorliegen, muß auch mit der Möglichkeit schlechterer Adsorption bei den Viruseiweißen gerechnet werden.

* * *

Der Laborantin am Physiologischen Institut, Frl. E. Freytag, danken wir für ihre sorgfältige Mitarbeit.

Herrn Prof. Dr. C. Krauch und der I. G. Farbenindustrie A. G., Ludwigshafen/Rh., sind wir für die Förderung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Schrifttum.

1. N. K. Adam, The Physics and Chemistry of Surfaces, second edition (Oxford 1938), 25.
2. A. v. Antropoff und M. v. Stackelberg, Atlas der physikalischen und anorganischen Chemie (Berlin 1929/32).
3. M. v. Ardenne, Naturwiss. **28**, 113 (1940).
4. M. v. Ardenne, Z. physik. Chem., Abt. A **187**, 1 (1940).
5. J. W. Mc Bain, T. F. Ford und D. A. Wilson, Kolloid-Z. **78**, 1 (1937).
6. G. Bergold und R. Brill, Kolloid-Z. **99**, 1 (1942).
7. G. Bergold und J. Heggstenberg, Kolloid-Z. **98**, 304 (1942).
8. G. Bergold und G. Schramm, Biol. Z. **62**, 105 (1942).
9. K. B. Blodgett, J. Amer. chem. Soc. **56**, 495 (1934).
10. K. B. Blodgett, J. Amer. chem. Soc. **57**, 1007 (1935).
11. K. B. Blodgett und J. Langmuir, Phys. Rev. **51**, 964 (1937).
12. S. Brohult, Nova Acta Regiae Soc. Sci. Upsaliensis, Ser. IV, **12**, Nr. 4 (1940).
13. J. B. Eriksson-Quensel und T. Svedberg, Biol. Bull. **71**, 498 (1936).
14. J. B. Eriksson-Quensel und T. Svedberg, J. Amer. chem. Soc. **58**, 1863 (1936).
15. J. Fankuchen, Phys. Rev. **53**, 909 (1938).
16. E. Gorter und F. Grendel, Proc. Acad. Sci. Amsterdam **29**, 371 (1926).
17. F. Hernler und E. Philippi, Z. physiol. Chem. **216**, 110 (1933).
18. C. Holley und S. Bernstein, Phys. Rev. **52**, 525 (1937).
19. G. J. Jenkins und A. Norris, Nature **144**, 441 (1939).
20. A. Keckwick und K. O. Pedersen, Biochem. J. **30**, 2201 (1936).
21. J. Langmuir, J. Frankl. Inst. **218**, 153 (1934).
22. J. Langmuir und V. J. Schaefer, J. Amer. chem. Soc. **59**, 1406 (1937).
23. J. Langmuir, V. J. Schaefer und H. Sobotka, J. Amer. chem. Soc. **59**, 1751 (1937).
24. R. W. Pohl, Einführung in die Optik (Berlin 1940).
25. A. G. Polson, Kolloid-Z. **88**, 51 (1939).
26. E. Stenhagen (mit Piper), Ark. Kemi, Mineral. Geol., Ser. 14A, 1 (1940).
27. T. Svedberg und K. O. Pedersen, Die Ultrazentrifuge (Dresden 1940).
28. A. Tiselius, Nova Acta Regiae Soc. Sci. Upsaliensis IV **7**, 1 (1930).
29. A. Tiselius, Trans. Faraday Soc. **33**, 524 (1937).

Aus dem Forschungs-Institut der AEG., Berlin

Die Auflösungsgrenze des Emissions-Elektronenmikroskops.

Von E. Brüche (Berlin). (Eingegangen am 1. Juni 1942)

Das Emissions-Elektronenmikroskop, worunter man ein Elektronenmikroskop zur Abbildung Elektronen abstrahlender Objekte versteht, war das erste Elektronenmikroskop, mit dem man aufschlußreiche elektronenmikroskopische Bilder erzielt hat. Es wurde daher in der Frühzeit der geometrischen Elektronenoptik besonders gepflegt. Die Ausbildung dieses Mikroskops zu einem Elektronen-Übermikroskop, d. h. zu einem Elektronenmikroskop, das höhere Auflösungen als das Lichtmikroskop (bei sichtbarem Licht: 200 mμ) erreicht, kam 1934 durch die Versuche von Brüche und Knecht[1]) zu einem gewissen Abschluß. Damals wurde nach dem Punkttrennungsverfahren eine Auflösung von 3 μ bewiesen, eine Auflösung von 1,5 μ als wahrscheinlich erreicht hingestellt. Diese Werte wurden mit einer einstufigen Anordnung erzielt, wenn damals auch gelegentlich bereits die zweistufige Abbildung zur Anwendung gekommen war[2]). Um ein richtiges Urteil von der Bedeutung dieser Auflösungsleistung von 1934 zu erhalten, muß man sich vergegenwärtigen, daß bei Zugrundelegung des Punkttrennungsverfahrens auch für das Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop zu der damaligen Zeit noch nicht die Überschreitung der lichtoptischen Auflösungsgrenze bewiesen war. Würde man nicht dieses exakte Verfahren benutzen, sondern etwa aus der Schärfe einer Kontur auf die Auflösung schließen, so reichten in beiden Fällen schon die damaligen Leistungen über die lichtoptische Auflösungsgrenze hinaus.

Während das Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop als Abbildungsmikroskop, d. h. als ein mit Linsen nach Art des Lichtmikroskops arbeitendes Gerät[3]), um 1936 die Auflösungsgrenze erreichte und sicher überschritt, blieb die Entwicklung bei dem Emissions-Elektronenmikroskop stehen. Diese Tatsache und der Hinweis auf gewisse Schwierigkeiten, die das Emissionsmikroskop bei der Erzielung hoher Auflösungen zu überwinden hat[4]), mögen zu der Meinung geführt haben, daß sich die Auflösung des Emissionsmikroskops nicht über die des Lichtmikroskops hinaus steigern ließe[5]). Im Gegensatz dazu haben wir stets darauf hingewiesen, daß wir ein Emissions-Übermikroskop für möglich hielten[6]).

Im Jahre 1940 begannen wir uns der Frage des Emissions-Übermikroskops wieder anzunehmen. Recknagel[7]) verfolgte die Bahnen der Elektronen im elektronenoptischen Immersionsobjektiv rechnerisch und legte die Voraussetzungen fest, unter denen die Abbildung übermikroskopischer Einzelheiten möglich sein würde. Bald darauf waren Mecklenburg[8]) und Boersch[9]) auch der experimentelle Beweis bei rein elektrischen Systemen und Kinder[10]) bei solchen aus Beschleunigungsfeld und magnetischer Linse gelungen. Dadurch hat diese Entwicklungsrichtung einen neuen Impuls erhalten.

Auf diese neueren Arbeiten sei hier im Zusammenhang eingegangen. Unsere Darstellung kann dabei in gewisser Beziehung als Fortsetzung des Berichtes angesehen werden, der 1934 in dieser Zeitschrift über die Anwendung des Emissionsmikroskops zum Studium von dünnen Schichten auf Metallen gegeben wurde[11]). Über diese Anwendungen, die inzwischen auch durch das Durchstrahlungs-Elektronenmikroskop eine wesentliche Förderung erfahren haben, vergleiche man z. B. die Beiträge von Mahl[12]) in dieser Zeitschrift.

[1]) E. Brüche und W. Knecht, Z. Physik **92**, 462 (1934).

[2]) E. Brüche und H. Johannson, Physik. Z. **33**, 898 (1932), Fußnote 1.

[3]) Über einen speziellen Versuch anderer Art vgl. E. W. Müller, Z. Physik **108**, 668 (1938).

[4]) Vgl. E. Brüche und O. Scherzer, Geometrische Elektronenoptik (Berlin 1934), 272.

[5]) Anm. bei der Korr. H. O. Müller, Elektrotechn. Z. **59**, 1190 (1938). Bis vor kurzem hatte ich angenommen, daß Herr Müller in seinem Bericht über das Durchstrahlungs-Übermikroskop unter „elektrischem Elektronenmikroskop[14])" ein Elektronenmikroskop mit elektrischen Linsen verstanden habe. Herr Müller hat mir im Laufe einer Diskussion mitgeteilt, daß meine Annahme unrichtig sei. Er habe das Emissions-Elektronenmikroskop gemeint; nur dieses habe er aus prinzipiellen Gründen für unmöglich gehalten. Ich danke Herrn Dr. Müller für seinen Hinweis und bedaure sehr, bisher irrtümlicherweise auch Herrn Müller für die Unmöglichkeit des Durchstrahlungs-Übermikroskops mit elektrischen Linsen gelegentlich zitiert zu haben.

[6]) E. Brüche und W. Henneberg, Erg. exakt. Naturwiss. **16**, 365 (1936).

[7]) A. Recknagel, Z. Physik **117**, 689 (1941).

[8]) W. Mecklenburg in der Schrift: C. Ramsauer, Elektronenmikroskopie (Berlin 1942), 6.

[9]) H. Boersch, Naturwiss. **30**, 120 (1942) (Chemisches Universitäts-Laboratorium Wien).

[10]) E. Kinder, Naturwiss. (im Druck).

[11]) E. Brüche, Kolloid-Z. **69**, 389 (1934).

[12]) H. Mahl, Kolloid-Z. **91**, 105 (1940), ebenda **96**, 7 (1941) und ebenda **100**, 219 (1942).

1. Emissions- und Durchstrahlungsmikroskop und seine Eigenarten.

Während das Durchstrahlungsmikroskop der Elektronenoptik hinsichtlich Aufbau und hinsichtlich der Objekte dem der Lichtoptik sehr nahesteht, unterscheidet sich das Emissions- oder Selbststrahlungs-Elektronenmikroskop merklich in beiden Hinsichten. Dieses Elektronenmikroskop ergibt bereits bei kleinen Auflösungen wertvolle Beiträge. Dient das Emissionsmikroskop der Lichtoptik zur Beobachtung glühender Metalle und ihrer Umkristallisation oder — z. B. als Lumineszenzmikroskop nach Lehmann — zur Beobachtung von Viren usw., so ist das Emissions-Elektronenmikroskop außer bei der Beobachtung glühender Metalle und ihrer Umstellungen auch bei dem Studium von Emissionsvorgängen von Elektronen wichtig, die dem Lichtmikroskop grundsätzlich unzugänglich sind. Hinsichtlich des Aufbaus ist der wichtige Unterschied zwischen Emissionslicht- und Emissionselektronen-Mikroskop darin zu sehen, daß bei letzterem erst aus den praktisch ohne Geschwindigkeit aus dem Objekt austretenden Elektronen die Strahlung, wie sie zur Bilderzeugung erforderlich ist, hergestellt werden muß. Diese Besonderheit ist die Ursache einer Anzahl sekundärer Unterschiede:

Zur Elektronenbeschleunigung im Emissionsmikroskop dient ein elektrisches Feld, das sich eng an das Objekt anschließt. Während bei der Verwendung eines magnetischen Objektivs sich dieses und das Linsenfeld unabhängig überlagern, verschmelzen beide bei der rein elektrostatischen Anordnung mehr oder minder[13]) zu einer neuen Einheit, dem elektronenoptischen Immersionsobjektiv. Fig. 1 zeigt ein solches Immersionsobjektiv[14]), das in diesem Falle dadurch entstanden ist, daß eine geeignet aufgeladene Blende zwischen die ebene Kathode (Objekt) und die Anodenblende gestellt worden ist. Man erkennt an den eingezeichneten Bündeln deutlich die „Immersionswirkung", nach der das Objekt seinen Namen hat, d. h. die Zusammendrängung der einzelnen vom Objektpunkt ausgehenden Strahlen zu einem engen Bündel. Bei dem Lichtmikroskop wird diese Immersion angewandt, um durch die Zusammendrängung der Strahlenbündel auch stark abgebeugte Strahlen noch ins Objektiv eintreten zu lassen, damit eine höhere Auflösung erhalten wird. Bei dem Emissions-Elektronen-

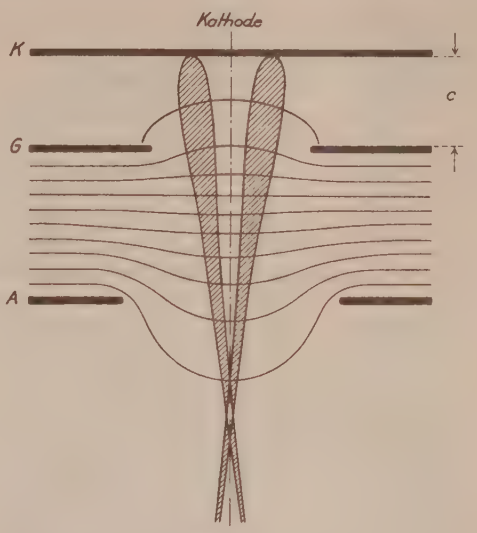


Fig. 1. Immersionsobjektiv aus Lochblenden nach Brüche und Johannson.
G = Gitterblende, Scheibendicke 0,5 mm, Lochdurchmesser 1,0 mm.
A = Anodenblende, Scheibendicke 0,5 mm, Lochdurchmesser 1,2 mm.
Abstand der Scheibenmitten Gitter/Anode = 1,0 mm, lichter Abstand 0,95 mm.

mikroskop findet man die Immersion in einer solchen Stärke, daß sämtliche von einem Punkt der (ebenen) Kathode als Gegenstand der Abbildung ausgehenden Elektronen in die Linse und zum Bildpunkt gelangen. Daraus folgt, daß hier für die Auflösungsbegrenzung andere Faktoren zu berücksichtigen sein werden als bei den Durchstrahlungsmikroskopen.

Die Eigenschaften des Immersionsobjektivs als Zweiblendensystem sind von Johannson[15]) untersucht worden. In Fig. 2 sind einige seiner Messungen für diesen typischen Vertreter der Emissionsmikroskope, und zwar des Systems Fig. 1, wiedergegeben. Nähert man die plane Kathode den beiden in festem Abstand belassenen Blenden mehr und mehr an, so muß man, um ein scharfes Bild auf dem z. B. 100 cm entfernten Leuchtschirm bei einstufiger Abbildung zu erhalten, die Spannung U_G der kathodennahen Blende (auch Gitter- oder Wehneltblende genannt) ändern, wie es Fig. 2a angibt. Die Kurve ist dabei für eine Anodenspannung von $U_A = 100$ Volt gezeichnet, so daß sie nach den elektronenoptischen Dimensionsgesetzen[16]), nach denen es

[13]) E. Brüche, Arch. Elektrotechn. **29**, 651 (1935).
[14]) E. Brüche und H. Johannson, Naturwiss. **20**, 353 (1932).
[15]) H. Johannson, Ann. Physik **18**, 385 (1933).
[16]) Vgl. Brüche-Recknagel, Elektronengeräte (Berlin 1941), 14.

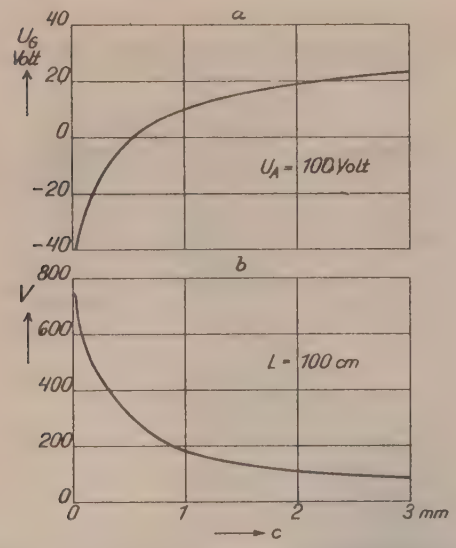


Fig. 2. Gitterspannung U_G und Vergrößerung V bei verschiedenen Abständen c Kathode/Gitter für das Immersionsobjektiv Fig. 1 nach Johannson.

für die Bahnen nur auf (U_G/U_A) ankommt, für jedes U_A bei entsprechender Multiplikation aller Zahlenwerte brauchbar ist[17]). Die Kurve Fig. 2a zeigt, daß bei Annäherung der Gitterblende an die Kathode, d. h. bei Verkleinerung des Abstandes c, die Gitterspannung U_G von positiven zu negativen Werten abfällt. Das bedeutet, daß vor der Kathode stets etwa das gleiche sammelnde Potentialfeld hergestellt werden muß. Da das Feld bei Annäherung insgesamt zusammengedrängt wird, wächst die Vergrößerung (Fig. 2b). Die kleinste zu erzielende reduzierte Brennweite[18]) liegt in der Größe der Blendendurchmesser. Sie ist jedoch stets größer als der Blendenabstand, der 1,0 mm beträgt[19]).

Für die Auflösung des Emissionsmikroskops kommt es, wie wir in Abschnitt 3 noch sehen werden, vorzugsweise auf Feldstärke und Feldverlauf unmittelbar vor der Kathode an. Wir wollen daher auf diesen Bereich, insbesondere bei kleinen c-Abständen ($c < 1$ mm) noch besonders ein-

[17]) Dabei ist allerdings vorausgesetzt, was — wie wir in Abschnitt 3 sehen werden — hinsichtlich der Auflösungsfragen nicht statthaft ist, daß die Elektronen-Austrittsenergie $e\varepsilon$, die man an sich mit ändern müßte, und die Raumladung uninteressant klein ist.

[18]) Die reduzierte Brennweite ist so errechnet, daß die Entfernung vom Gegenstand- zum Blickpunkt im Verhältnis der gemessenen Vergrößerung geteilt wurde.

[19]) Von Scheibenmitte bis Scheibenmitte gemessen; der lichte Abstand beträgt 0,95 mm.

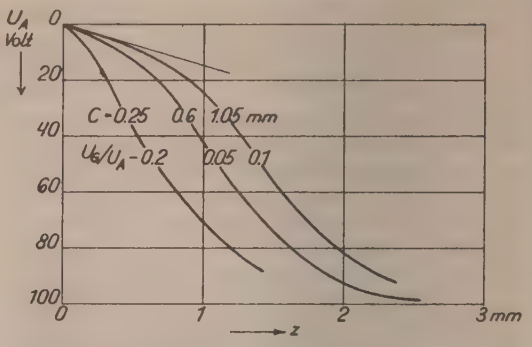


Fig. 3. Spannungsabfall längs der Achse bei verschiedenen Abständen c zwischen Kathode und Gitter für das Immersionsobjektiv Fig. 1 nach Johannson.

gehen. Aus Potentialtrogmessungen ergibt sich, daß beim Heranschieben des Systems aus Gitterblende und Anodenblende an die Kathode von $c = 1$ mm an die Feldstärke erst langsam und nahe der Berührung schnell steigt (Fig. 3).

2. Auflösungsdefinition und Bestimmung.

Bevor die theoretischen und experimentellen Untersuchungen besprochen werden, die die Klärung der erreichbaren bzw. erreichten Auflösung zum Gegenstand haben, werde zunächst klargestellt, was unter Auflösung zu verstehen ist.

Beim Lichtmikroskop hat es sich seit Abbe eingebürgert, die Auflösung danach zu beurteilen, welche Abmessungen periodische Strukturen (Gitter von Diatomeen) haben dürfen, damit sie noch getrennt im Bild zu erkennen sind, d. h. aufgelöst erscheinen. Beim Elektronenmikroskop läßt sich die Beurteilung des Auflösungsvermögens durch die Abbildung von Gittern, die noch den Vorteil hat, daß sie mathematisch gut übersehbar ist, deswegen nicht allgemein anwenden, weil hier bisher keine geeigneten Gitterstrukturen[20]) bekannt geworden sind. Für die experimentelle Elektronenmikroskopie hat es sich — statt der an sich möglichen, aber äußerst schwierigen Beurteilung des Intensitätsabfalles an Kanten — eingebürgert, den Mittelpunktsabstand getrennt wahrnehmbarer, aber möglichst eng benachbarter Objektpunkte als Maß für dieses Auflösungsvermögen zu benutzen[21]).

[20]) Die von H. O. Müller und C. W. A. Pasewaldt (Naturwiss. 30, 55, 1942) gefundenen Strukturen an den Diatomeen-Siebplatten geben hier gewisse Möglichkeiten.

[21]) E. Brüche und W. Knecht, Z. Physik 92, 462 (1934).

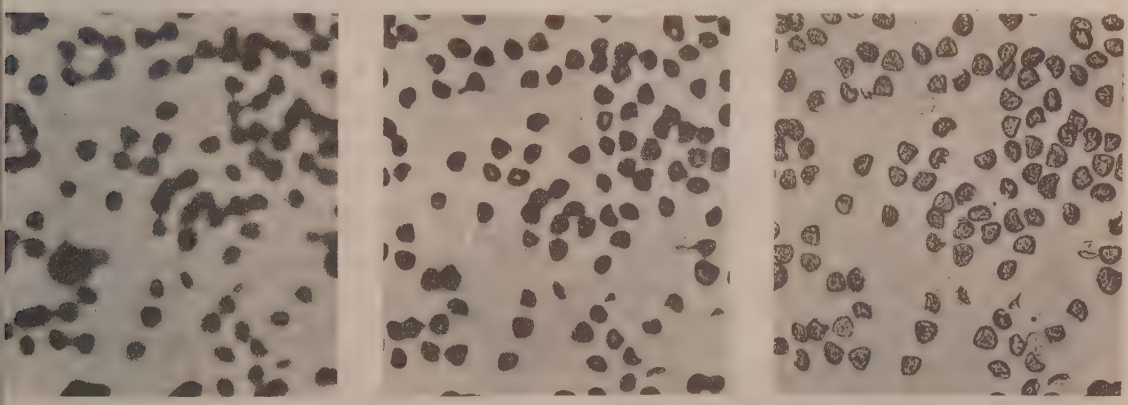
Dieses „Punkttrennungs-Verfahren" ist auch der Optik nicht unbekannt. Es muß in der Astronomie verwendet werden, wo es bei der Beobachtung eng benachbarter Doppelsterne dazu dienen kann, das Auflösungsvermögen des Fernrohrs zu beurteilen. Natürlich ist dieses Verfahren der Abbe'schen Definition nicht ohne weiteres gleichzusetzen und kann daher auch nicht das Gittertrennungs-Verfahren in der Optik ersetzen. Es schließt sich jedoch dem Verfahren der Gitterabbildung insofern relativ eng an, als zwei Punkte der Anfang eines Gitters aus vielen äquidistanten Punkten sind, deren Beugungsfigur durch diejenige zweier Punkte vorbereitet wird. Lord Rayleigh[22]) hat darauf hingewiesen, daß die Formeln bei der Abbildung eines Gitters und die Trennung eines Punktpaares nahezu gleichlautend sind, so daß wir uns mit dem Punkttrennungs-Verfahren tatsächlich der Auflösungsbestimmung durch Untersuchung von Gittern weitgehend anpassen.

Bei der experimentellen Bestimmung der Auflösung nach diesem Verfahren ist noch die Frage zu berücksichtigen, ob auf diese Weise nicht eine zu kleine oder zu große Auflösung bestimmt werden könne. Beides ist tatsächlich möglich. Enthält das Bild zufällig keine Scheibchen gerade im Abstand der Auflösung oder sind die Scheibchen relativ groß, so wird der gemessene Wert des Auflösungsvermögens zu groß sein. Entsprechen die Scheibchen in Größe und Abstand gerade dem richtigen Wert, so kann wegen der undurchsichtigen Beugungsverhältnisse wohl auch ein etwas kleinerer Wert vorgetäuscht sein, bei dem die Intensitätskurve beider Punkte nun keine Einsenkung mehr zeigt und man — wie bei der Beobachtung von Doppelsternen — nun nur noch aus der „semmelförmigen Gestalt" des Flecks auf das Vorhandensein zweier Punkte wird schließen können.

Für die Bestimmung selbst empfiehlt sich in den nicht ganz sicheren Fällen an der Grenze der Auflösung das Registrierphotometer zu verwenden, das bei einem langen, aber engen Spalt die Wirkung des Plattenkorns weitgehend unschädlich macht[23]).

Sind auf dem zur Bestimmung herangezogenen Bild keine optimalen Doppelscheibchen zu finden[24]), so wird man geneigt sein, aus der Lage von zwei Scheibchen, die vielfach so weit entfernt sind wie sie groß erscheinen, zu extrapolieren. Wenn man auch mit Recht sagen wird, daß die wirkliche Auflösung des Bildes kleiner als der Abstand der beobachteten engsten Doppelscheibchen ist, so wird doch jede Abschätzung bedenklich erscheinen, denn was man dabei letzten Endes tut, ist ein Rückschließen aus dem mehr oder minder definierten Scheibchen, das die wirkliche Einzelheit vertritt, auf die Größe der Einzelheit selbst. Ein solcher Rückschluß auf eine Teilchengröße, die kleiner als die sichergestellte Auflösung ist, ist aber stets bedenklich.

Wendet man das Punkttrennungs-Verfahren auf lichtmikroskopische Abbildungen an, bei



$d \doteq 1$ mm $d = 2$ mm $d = 8$ mm

Fig. 4. Lichtbilder von Lykopodiumsporen bei verschiedener Objektivöffnung d nach Köhler[25]) (Zeiss Apochromat 6/0,17), Maßstab 120 : 1.

[22]) Lord Rayleigh (J.W. Strutt), Philos. Mag. 42, 167 (1896).

[23]) Vgl. E. Brüche und A. Recknagel, Elektronengeräte (Berlin 1941), 312.

[24]) v. Ardenne (Phys. Z. 42, 72, 1941) hat ein Verfahren angegeben, nach dem man zur Auflösungsbestimmung geeignete Objekte erhält.

[25]) A. Köhler, Zeiss-Nachr. 3, Juli-Heft (1939).

denen man die Auflösungsleistung des benutzten Mikroskopobjektivs kennt, so erhält man zufriedenstellende Übereinstimmung der Zahlenwerte für die Auflösung. Beispielsweise liefert der Vergleich der nach dem Punkttrennungs-Verfahren bestimmten Auflösung für die drei Bilder Fig. 4 die Werte 9:5:1, während die Aperturen in genügender Übereinstimmung dazu sich wie 8:4:1 verhalten.

Auch für die Theorie des Elektronenmikroskops ist die erwähnte, von der Lichtmikroskopie abweichende Festlegung nach dem Punkttrennungs-Verfahren nützlich. Beim Emissionsmikroskop kann man, wie wir noch genauer sehen werden, die Betrachtung der Beugung zurücktreten lassen, wenn man die Auflösung bestimmt. Man rechnet hier mit dem Zerstreuungskreis, über den sich die von einem Punkt des Objekts ausgehenden Strahlen in der Bildebene verteilen, und der vorzugsweise durch die ungenaue Fokussierungswirkung der Felder bedingt ist. Unter Auflösungsvermögen A wird dann in Analogie zu der experimentellen Bestimmung der Mittelpunktsabstand zweier sich gerade berührender Zerstreuungskreise, d. h. deren Durchmesser, angesehen.

3. Auflösung beim Emissionsmikroskop nach der Theorie.

Bei jedem Durchstrahlungsmikroskop ist die Auflösung durch die Apertur und den Korrektionszustand des Objektivs bestimmt. Soll ein Bild eines Objektes entstehen, so müssen die von dem Objekt abgebeugten Strahlen (mindestens des ersten Beugungsmaximums) erstens in das Objektiv gelangen und zweitens von dem Objektiv zu einem einwandfreien Bild verarbeitet werden. Bei Elektronenlinsen, die im allgemeinen rein geometrisch eine sehr große Apertur haben, so daß auch stark abgebeugte Strahlen, die von feinen Einzelheiten herrühren, in das Objektiv gelangen, ist die zweite Bedingung nicht erfüllt. Es ist daher hier erforderlich, die achsenfern einfallenden Strahlen, die sich nur in einer Bildverschlechterung der gröberen Einzelheiten auswirken, abzublenden. Das geschieht u. a. durch Begrenzung der Apertur des beleuchtenden Bündels, wodurch man dafür sorgt, daß das Objektiv nur im achsennahen Bereich benutzt (beaufschlagt) wird.

Bei dem Emissionsmikroskop der Elektronenoptik gelangen infolge der Richtwirkung des Beschleunigungsfeldes normalerweise alle Elektronen, die von einem Punkt der (ebenen) Kathode nach allen Richtungen der Halbkugel ausstrahlen, durch das Objektiv zur Bildebene. Die Apertur des Bündels ist also am Gegenstand sehr groß und trotzdem wird das Objektiv nur in relativ achsennahen Bereichen benutzt. Recknagel[26]) hat die besonderen vorliegenden Verhältnisse einer Diskussion unterzogen und festgestellt, daß hier die Auflösung in dem heute zugänglichen Bereich durch andere Umstände begrenzt wird, als man es zunächst erwartet, daß jedoch die Abbildung übermikroskopischer Einzelheiten möglich ist.

Um zu erkennen, wie hier die Auflösung begrenzt wird, ersetzen wir uns das Objekt des Emissionsmikroskops — mag es rein elektrisch oder mit einer magnetischen Linse arbeiten — durch ein Modell, bestehend aus Beschleunigungsfeld und anschließender Abbildungslinse. Im Beschleunigungsfeld werden die Elektronen, die mit der Austrittsenergie $e\varepsilon$ aus einem Punkt der ebenen Kathode austreten, in Annäherung ein Bündel von Parabeln bilden. Die äußerste Parabel stammt dabei von den tangential längs der Kathode ausgegangenen Elektronen (Fig. 5a). Die an diese äußersten Parabeln in bestimmter Entfernung von der Kathode gelegten Tangenten schneiden sich in einem Punkt der Entfernung hinter dem Objektpunkt. Die Öffnung 2α der an diese Parabel gelegten Tangenten ergibt sich aus den beiden Geschwindigkeiten $v_r \sim \sqrt{\varepsilon}$ und $v_z \sim \sqrt{U}$ zu $\operatorname{tg}\alpha = \sqrt{\frac{\varepsilon}{U}}$, wo U die durchfallende Beschleunigungsspannung bedeutet.

Betrachtet man die Bahn eines Elektrons, das mit kleinerem Winkel β von der Kathode ausgegangen ist (Fig. 5b) und nimmt an, daß die Austrittsenergie $e\varepsilon$ für jede Austrittsrichtung gleich groß ist, so wird jetzt die radiale Austrittsgeschwindigkeit $\sqrt{\varepsilon_r} = \sqrt{\varepsilon}\sin\beta$. Für die Richtung nach Durchfallen des Beschleunigungsfeldes gilt:

$$\operatorname{tg}\alpha \approx \sqrt{\frac{\varepsilon}{U}}\sin\beta,$$

wenn man berücksichtigt, daß $\varepsilon \ll U$ ist. Das Elektron scheint dabei von einem Punkt hinter der Kathode zu kommen, der jedoch nicht mit dem zuerst ermittelten Punkt übereinstimmt. Den neuen Punkt erhält man offenbar, wenn man die Bahnparabel über die Kathode hinaus verlängert, wobei man die rückwärtige „Eindringtiefe" des Elektrons leicht aus der Austrittsgeschwindigkeit senkrecht zur Kathode

$$\sqrt{\varepsilon_z} = \sqrt{\varepsilon}\cos\beta$$

erhält und nun wie vorher die Achse der Parabel mit der an den Endpunkt der betrachteten Bahn gelegten Tangente zum Schnitt bringt.

[26]) A. Recknagel, Z. Physik **117**, 689 (1941).

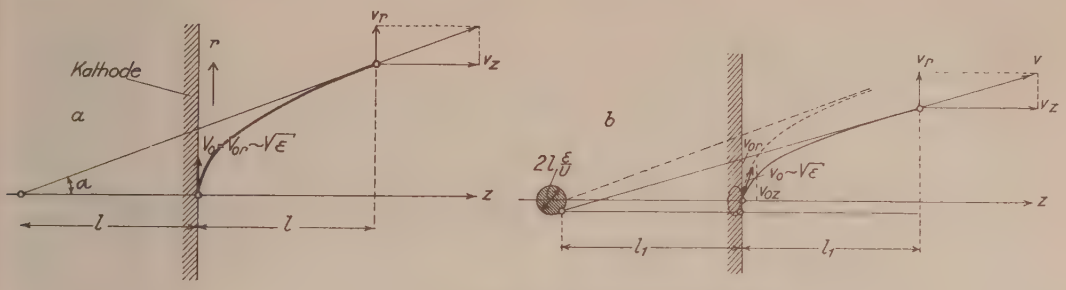


Fig. 5. Elektronenbahnen im Beschleunigungsfeld.

Läßt man β von 90 bis 0° abnehmen, so bewegt sich der Schnittpunkt zwischen Tangente und jeweiliger Symmetrielinie der Parabel auf einem Kreis vom Durchmesser $2l\frac{\varepsilon}{U}$ (Fig. 5b). Dieser Kreis, von dem die Elektronen auszugehen scheinen, ist damit an die Stelle des Kathodenpunktes getreten. In der Nähe dieses Kreises hat das Strahlenbündel einen engsten Querschnitt, dessen Durchmesser schätzungsweise halb so groß wie der Kreisdurchmesser ist, also den Wert $l\frac{\varepsilon}{U}$ hat. Sitzt nun dort, wo wir die Tangente an die Parabeln legten, eine fehlerfrei arbeitende Elektronenlinse, so wird sich infolge der Wirkung des Beschleunigungsfeldes an Stelle eines Kathodenpunktes ein Zerstreuungskreis auf dem Leuchtschirm ergeben. Versucht man möglichst scharf einzustellen, so wird man günstigstenfalls auf diesen engsten Querschnitt des Bündels einstellen[27]). Die Auflösung A — d. h. der Abstand von zwei Punkten der Kathode im Abstande A, die im Bild zwei sich gerade berührende Zerstreuungskreise ergeben — wird daher größenordnungsmäßig gleich dem Durchmesser des engsten Querschnitts sein:

$$A = \frac{\varepsilon}{U} l = \frac{\varepsilon}{E},$$

wo E die Feldstärke an der Kathode bedeutet.

Nach der ganzen Art der Ableitung ist klar, daß unsere Formel nur bis auf einen Zahlenfaktor der Größenordnung 1 richtig ist. Eine vorsichtige Abschätzung, die u. a. auch die Breite des Energiespektrums berücksichtigt, führte Recknagel zu der Formel $A = 4\frac{\bar{\varepsilon}}{E}$, wobei unter $\bar{\varepsilon}$ die wahrscheinlichste Energie zu verstehen ist. Dieser Wert kann als obere Grenze der auflösbaren Strecke betrachtet werden.

Diese Betrachtung des Emissionsmikroskops erlaubt sogleich, einen wichtigen Schluß zu ziehen. Die Auflösung wird um so größer sein, je größer die wirkende Feldstärke ist. Denken wir uns z. B. die Feldstärke verdoppelt, so werden die Parabeln doppelt so schlank, d. h. der Kreis, von dem die Elektronen zu kommen scheinen, wird halb so groß und es wird damit die Auflösung doppelt so groß.

Betrachtet man die Abbildungslinse nicht mehr als fehlerfrei, so wird auch sie im Zusammenwirken mit dem Beschleunigungsfeld zu einer Verschlechterung der Auflösung einen Beitrag liefern. Es ergeben sich nach der Theorie Recknagels eine Anzahl von weiteren Fehlergliedern, die zu dem soeben behandelten Fehler dazukommen. Diese Fehler verschwinden jedoch teils auf der Achse und teils scheinen sie auch in deren Nähe neben dem behandelten Fehler keine Rolle zu spielen. Das Gleiche gilt, wenn wir unsere bequeme Zerlegung des Objektivs aufgeben, eine bessere Näherung durch Ersatz des Immersionsobjektivs durch zwei Beschleunigungsfelder mit einer Sammellinse in der Mitte und einer Zerstreuungslinse am Feldende wählen oder gar das wirkliche einheitliche System eines Immersionsobjektivs betrachten. Die Regel ist immer die gleiche: Es muß angestrebt werden, die Feldstärke an der Kathode möglichst groß zu machen.

Unter Benutzung der Näherungsformel können wir nun die Johannsonschen Kurven, die die allgemeinen geometrisch-optischen Eigenschaften des Immersionsobjektivs (1 mm Blendendurchmesser und Abstand) beschreiben, durch eine Kurve über die Auflösung ergänzen. Dazu benutzen wir die aus Fig. 3 gewonnene Fig. 6b, in der die Feldstärke für verschiedene Entfernung c

[27]) Auf welchem Querschnitt des Strahlenbündels man mit dem Objektiv wirklich einstellen wird, läßt sich, wie es aus der Optik bekannt ist, durch geometrisch optische Betrachtungen nicht festlegen. Die Einstellebene wird in der Nähe des engsten Querschnitts und in der Nähe der Gauss'schen „Bildebene" des homogenen Feldes liegen.

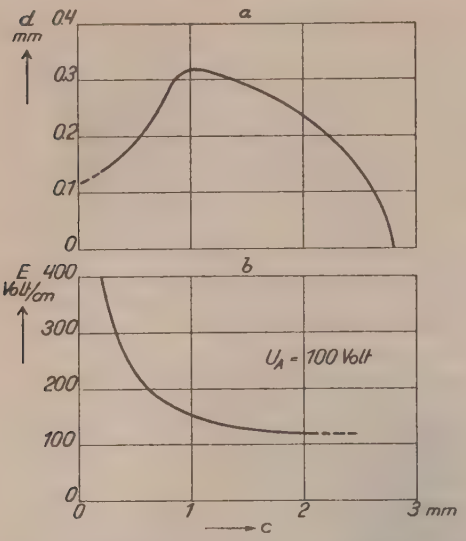


Fig. 6. Scharfer Bildbereich d und Feldstärke an der Kathode E bei verschiedenem Abstand c zwischen Kathode und Gitter für das Immersionsobjektiv Fig. 1.

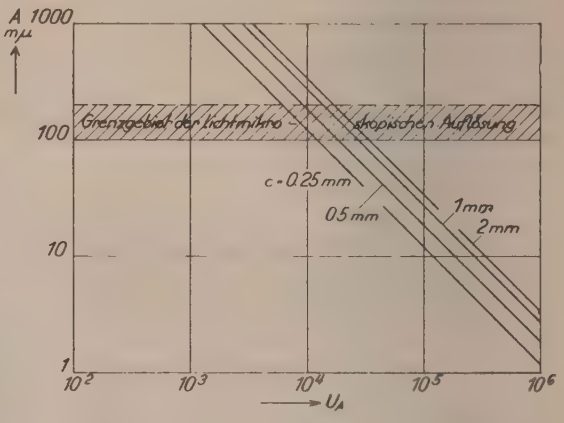


Fig. 7. Auflösung A des Immersionsobjektivs Fig. 1 in Abhängigkeit von der Anodenspannung U_A bei verschiedenen Abständen c zwischen Kathode und Gitter.

zwischen Kathode und Gitterblende unter der Annahme aufgetragen ist, daß zwischen Kathode und Anode $U_A = 100$ V liegen. In Fig. 6a ist außerdem der „scharfe Bildbereich" nach Johannson's Messungen aufgetragen.

Fig. 7 zeigt die Auflösung in Abhängigkeit von der Anodenspannung U_A für vier Stellungen der Gitterblende c=0,25, c=0,5, c=1 und c=2 mm. Dabei ist in die Formel $A = 4 \cdot \bar{\varepsilon}/E$ für die wahrscheinlichste Austrittsenergie der Elektronen 0,1 Volt gesetzt, so daß bei Messung von E in Volt/cm die Auflösung A in mμ wird: $A = 4 \cdot 10^6/E$. Für $c = 1$ mm, wo das Größenmaximum des scharf abgebildeten Bereiches liegt, gilt, daß zwischen 10000 und 20000 Volt/cm Feldstärke an der Kathode das Grenzgebiet der lichtmikroskopischen Auflösung, die für sichtbares Licht bei 200 mμ, für ultraviolettes Licht bei 100 mμ liegt, durchschritten wird. Diese Feldstärke entspräche einer Anodenspannung von etwa $U_A = 10000$ Volt bei dem System von Johannson (Fig. 1). Aus diesen Betrachtungen wird man schließen, daß das Emissionsmikroskop ein Übermikroskop zu werden vermag. Der Weg dazu ist der Übergang zu hohen Feldstärken vor der Kathode und die Anwendung der allgemeinen Erfahrungen, die bei der Entwicklung des Durchstrahlungs-Übermikroskops gesammelt sind, insbesondere Innenphotographie und zweistufige Abbildung.

4. Einfluß der Objektunebenheiten auf die Auflösung.

Die behandelte Tatsache, daß die Kräfte in der Nähe der Kathode für die Auflösung des Immersionsobjektivs bestimmend sind, bedeutet auch, daß jede Feldstörung sich sehr stark auf die Abbildung auswirken wird. Da die Objektoberfläche die erste brechende Fläche des Objektivs ist, wird sie durch Unebenheiten und Potentialunterschiede die Linse selbst deformieren. So werden sich Unregelmäßigkeiten in der Abbildung ergeben müssen, zumal die Elektronen am Anfang ihrer Bahn noch langsam und damit kleinen Feldern gegenüber besonders empfindlich sind. Zunächst wird man daran denken, daß die Auflösung sich verschlechtern wird. Das ist jedoch bei den Definitionen, die wir der Bestimmung zugrunde legten, nicht unbedingt notwendig.

Das „Objektgebirge", das zur Vereinfachung eindimensional gedacht sei, werde — wie bei der Fourier-Analyse einer Schwingung — in kleine und große Wellen zerlegt, und es seien zwei Extreme herausgegriffen, ein sehr grobes und ein sehr feines Wellengitter. Die grobe Welle, in deren Tal oder auf deren Berg eine Einzelheit betrachtet werden soll, bedeutet eine allgemeine Krümmung der Kathodenfläche und bleibt so für die Abbildung, wenn das Objektiv etwas anders eingestellt wird, abgesehen von der schwachen Zylinderlinsenwirkung, ohne Einfluß. Die ganz feinen

Wellen werden überhaupt keinen Einfluß ausüben können, denn sie sind ja sowieso unter der „Sichtgrenze" des Mikroskops.

Von Bedeutung wird das angenommene Wellengitter, wenn Auflösungsgrenze und Wellenlänge etwa gleich sind. Wie die Elektronenbahnen durch das Oberflächengebirge geändert werden, ist im Prinzip bekannt[28]). Die Wellen werden sich als Sammel- oder Zerstreuungs-Zylinderlinsen auswirken und so zusätzliche Fokussierungs- und Zerstreuungserscheinungen bedingen (Fig. 8a).

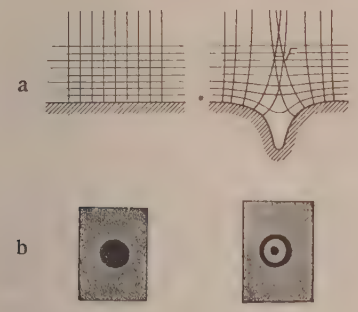


Fig. 8. Wirkung von Mulden auf den Verlauf senkrecht aus der Kathode austretender Elektronen.
a) Felder und Bahnen,
b) Elektronenbilder nach Knoll und Ruska.

Stellt man mit dem Objektiv auf größte Schärfe ein, so wird man möglicherweise auf die Fokussierungsstelle F einstellen und damit sogar eine sehr scharfe „Abbildung" von Punkten bzw. Strichen erhalten. Das, was man sieht, ist allerdings keine getreue Abbildung der Struktur des Gitters mehr.

Für Mulden sind solche Erscheinungen schon früh beobachtet[29]) und diskutiert[30]) (Fig. 8b). Man erkennt sie, wie entsprechende Erscheinungen in der Lichtoptik, durch Heben und Senken der Gegenstandsebene.

Außer diesem soeben veranschaulichten Fall hat Recknagel[31]), der statt der Wellen Streifen verschiedenen Potentials zugrunde legte, auch den Einfluß des potentialtheoretischen Analogons einer einzelnen kleinen Mulde oder Kugel, den Einfluß eines Dipols, durchgerechnet. Da die Feldstörung sich hierbei zur Linse hin nicht exponentiell, sondern nur mit der dritten Potenz des Abstandes verliert, findet man in diesem Falle eine Verschlechterung der Auflösung, die unter sehr ungünstigen Bedingungen den Faktor 3 ausmacht. Wir müssen also in diesem Falle mit der Auflösung für den durch Unebenheiten ungestörten Fall um diesen Faktor weitergehen, um experimentell die Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops erreichen zu können. Diese Bedingung zu erfüllen ist aber keine große Schwierigkeit, erfordert es doch nur, die Feldstärke vor der Kathode auf das Dreifache zu erhöhen.

5. Das Immersionsobjektiv als Emissions-Übermikroskop.

Bei dem Versuch, mit dem Immersionsobjektiv eine hohe Auflösung zu erzielen, wird man entsprechend den Erkenntnissen der Theorie die Beschleunigungsspannung von den etwa 1 kV, die 1934 von Brüche und Knecht benutzt worden war, zunächst auf 20—50 kV erhöhen. Es bedingt das die gleichen Isolations- und sonstigen Schwierigkeiten, die bei dem elektrostatischen Übermikroskop von Mahl[32]) bzw. bei dem Schattenmikroskop von Boersch[33]) vorlagen und dort überwunden wurden. Außerdem ist durch das Experiment klargestellt, daß große Präzision im Aufbau erforderlich ist.

Fig. 9 zeigt zunächst die Systeme, die Boersch[34]), Mahl[35]) und Mecklenburg[36]) im Anschluß an die Arbeiten Johannsons für hohe Spannungen gebaut und benutzt haben. In Fig. 10 ist dann als Beispiel der Aufbau von Mecklenburg unter Berücksichtigung der Halterungen usw. herausgezeichnet. Mecklenburg verwendete als Kathode eine indirekt geheizte Plankathode, während die anderen Autoren ein Band verwenden, um die erforderliche plane Fläche als Gegenstand der Abbildung zu erhalten. Vor der Kathode sitzt in kleiner Entfernung die Öffnung der Gitterblende. In relativ großem Abstand darunter liegt die Anode mit abgerundeten Rändern und einer Öffnung von 1 bis 2 mm. So entstanden Systeme, deren allgemeine Eigenschaften sich aus Johannsons Messungen (Fig. 2) ab-

[28]) E. Brüche und H. Johannson, Ann. Phys. **15**, 145 (1932); H. Seemann, Z. Physik **92**, 258 (1934); G. Kemmnitz, M. Knoll und W. Walcher, Z. Physik **96**, 612 (1935).
[29]) M. Knoll und E. Ruska, Ann. Phys. (5) **12**, 607 (1932).
[30]) E. Brüche und O. Scherer, Geometrische Elektronenoptik (Berlin 1934), 234.
[31]) A. Recknagel, Jb. AEG.-Forschg (im Druck).
[32]) H. Mahl, Naturwiss. **27**, 417 (1939).
[33]) H. Boersch, Naturwiss. **27**, 418 (1939).
[34]) H. Boersch, Naturwiss. **30**, 120 (1942).
[35]) H. Mahl, Z. techn. Physik **23**, 117 (1942).
[36]) W. Mecklenburg und C. Ramsauer, Elektronenmikroskopie (Berlin 1942) (mitgeteilt in einer gemeinsam mit B. v. Borries gehaltenen Vortragsfolge von Brüche vor dem VDI-Berlin am 11. 2. 1942).

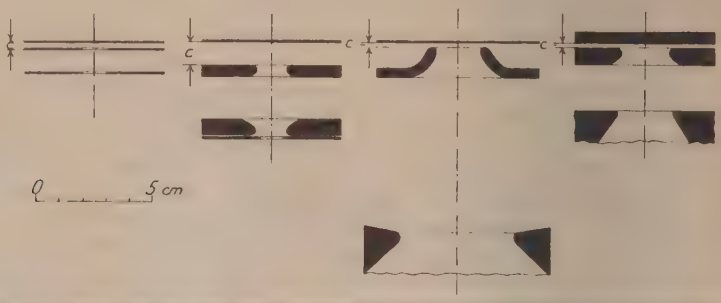


Fig. 9. Immersionsobjektive verschiedener Bauart.

	Johannson	Boersch	Mahl	Mecklenburg
Gitterblendendurchmesser . . .	1 mm	1,3 mm	1,8 mm	2 mm
Abstand c	veränderlich	1 mm	0,2 mm	0,2 mm
Anodenblendendurchmesser . . .	1,2 mm	1,4 mm	5 mm	2,4 mm
Anodenspannung.	1 kV	30 kV	20 kV	30 kV

schätzen lassen, während die Auflösungseigenschaften, die durch die Feldstärke vor der Kathode bestimmt werden, aus der Theorie folgen (Fig. 7). Innenphotographie und — jedenfalls bei Mahl und Mecklenburg — Anwendung einer zweiten Vergrößerungsstufe tragen zur Ausnutzung der durch das Objektiv gegebenen Auflösung bei.

Die drei Autoren kamen bei ihren Experimenten sogleich, wie es zu erwarten war, mit der Auflösung in die Größenordnung des Lichtmikroskops. So zeigt Fig. 11a einen Ausschnitt aus einer mit dem System Fig. 10 erzielten Aufnahme von Mecklenburg. Es handelte sich um eine Oxydkathode, die in 1800facher Vergrößerung aufgenommen und dann lichtoptisch auf insgesamt 50000fache Vergrößerung gebracht worden ist. 5 mm auf dem Bild sind also 100 mμ. Punkte

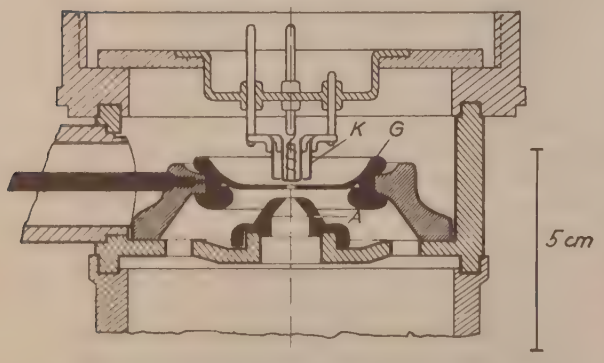


Fig. 10. Immersionsobjektiv des zweistufigen Emissions-Mikroskops nach Mecklenburg.

in diesem Abstand waren häufig zu finden; die Auflösungsgrenze des Übermikroskops, die für sichtbares Licht bei 200 mμ liegt, ist demnach sicher überschritten. Die in Fig 11b daneben gestellte Aufnahme von Brüche und Knecht läßt im Vergleich die 1934 sichergestellte Auflösung von rund 3000 mμ erkennen.

Legt man an die neuen Aufnahmen einen strengen Maßstab an, indem man nur einwandfrei getrennte Punkte berücksichtigt, so wird man nach den Aufnahmen von Mecklenburg von einer sichergestellten Auflösung von 40 mμ sprechen. Bei geringeren Ansprüchen kann von 60 mμ bei Boersch, von 20 mμ bei Mecklenburg gesprochen werden.

Potentialfeldmessungen an den Systemen liegen nicht vor, so daß der genaue Wert der Feldstärke an der Kathode nicht angegeben werden kann. Wenn man dieses Feld auf 80 kV/cm bei 30 kV Anodenspannung schätzt, so wird man einen größenordnungsmäßig richtigen Wert der Auflösung erhalten. Nach der Theorie wird man eine auflösbare Strecke von mindestens 50 mμ erwarten, was mit dem Experiment im Einklang steht.

Zur Veranschaulichung der bei der Bilderzeugung vorliegenden Verhältnisse sei noch folgender Vergleich gegeben: Bei 100facher Vergrößerung des Immersionsobjektivs Fig. 1 wäre die Gitterblende 10 cm im Durchmesser. Hinter ihr in 3 cm Abstand säße die Kathode, auf der ein Bereich von 2 cm scharf abgebildet wäre (Fig. 6a). Der Bildausschnitt der Fig. 11a entspräche 1 mm und der Abstand der aufgelösten Punkte $^1/_{100}$ mm.

a b

Fig. 11. Hochvergrößerte Ausschnitte aus emissionsmikroskopischen Aufnahmen von Oxydkathoden, a) nach Mecklenburg, Maßstab 50000 : 1, b) nach Brüche und Knecht, Maßstab 1000 : 1.

6. Das magnetische Emissionsmikroskop als Übermikroskop.

Es ist nicht einzusehen, warum das Beschleunigungsfeld mit überlagerter magnetischer Linse sich hinsichtlich der Auflösung anders benehmen sollte als das elektrische Immersionsobjektiv. Doch scheint es zweckmäßig, den Versuch wirklich durchzuführen. Für ihn sind insofern größere Vorarbeiten erforderlich, als man bei dem elektrischen Emissionsmikroskop seit jeher mit Elektronenlinsen, deren Brennweiten in der Größenordnung von 1 mm liegen, arbeitet, während das magnetische Emissionsmikroskop nach Knoll, Houtermans und Schulze[37]) Linsen von mehreren Zentimetern Brennweite benutzt und Versuche mit Linsen kleiner Brennweiten hier bisher überhaupt noch nicht unternommen worden sind.

Kinder[38]) hat für diese Versuche eine besondersartige Doppeljochlinse[39]) gebaut, bei der das Beeinflussungsfeld ähnlich wie bei Anordnungen von v. Borries und Ruska[40]) einseitig nach außen gedrückt ist. Damit sind erstmalig magnetische Linsen mit kleiner Brennweite von einigen Millimetern für Emissionsuntersuchungen angewandt worden. Die Vergrößerung, die mit diesem Emissionsmikroskop erreicht wurde, ist etwa zehnmal so groß, wie sie mit den bisherigen magnetischen Emissionsmikroskopen erzielbar war. Fig. 12 läßt die gesamte Objektivanordnung mit Gitterblende G von 2 mm Durchmesser und der besonderen, auf dem oberen Polschuh angebrachten Objektivblende B von 1 mm Durchmesser erkennen. Der Beschleunigungsteil scheint sich zunächst nicht von den im letzten Abschnitt beschriebenen Anordnungen zu unterscheiden. Der Unterschied liegt auch nicht in der Geometrie, sondern in den angelegten Spannungen. Die Gitterblende war jetzt mit der Kathode verbunden, so daß die volle Spannung zwischen ihr und der Anode lag. Dabei ergibt sich ohne Einschaltung der magnetischen Linse kein scharfes Bild.

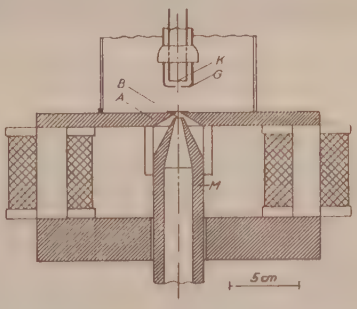


Fig. 12. Objektiv des magnetischen Emissionsmikroskops nach Kinder.

Wie Boersch und Mahl benutzte auch Kinder ein direkt geheiztes Molybdänband. Er bildete zweistufig ab und erzielte dabei 1800fache Gesamtvergrößerung.

Bei der Auswertung seiner Aufnahmen konnte Kinder eine Auflösung von $A = 140$ bzw. 90 mμ sicherstellen. Damit ist jetzt das Emissions-Übermikroskop in der elektrischen und magnetischen Form verwirklicht und diese Streitfrage der Elektronenmikroskopiker im Sinne unserer Anschauungen geklärt.

[37]) M. Knoll, W. Houtermans u. W. Schulze, Z. Physik 78, 340 (1932).
[38]) E. Kinder, Naturwiss. (im Druck).
[39]) E. Kinder und A. Pendzich, Jb. AEG.-Forschg 7, 23 (1940).
[40]) B. v. Borries und E. Ruska, DRP. 707331.

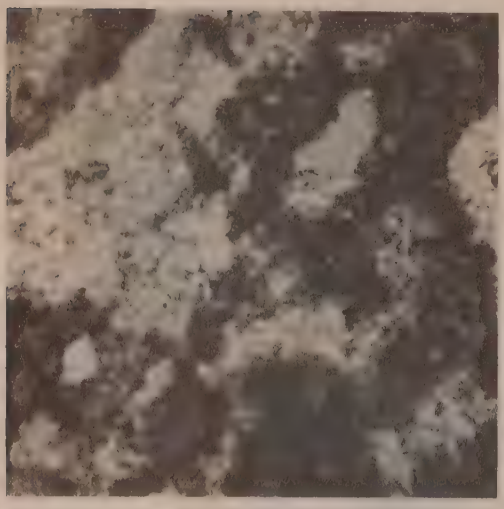


Fig. 13. Oxydkathode nach Mecklenburg, Maßstab 3000 : 1.

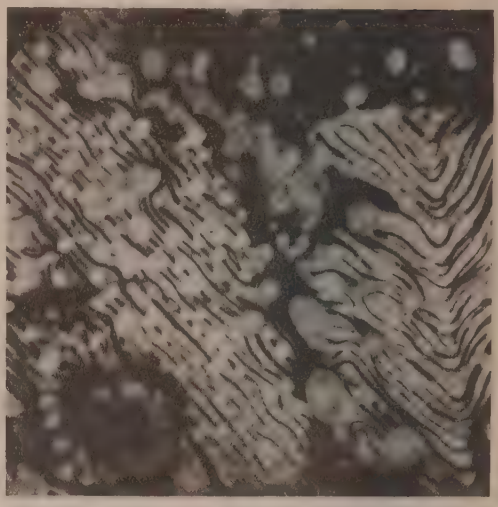


Fig. 14. Oxydkathode in späterem Aktivierungszustand nach Mecklenburg, Maßstab 3000 : 1.

7. Aufnahmen mit dem Emissions-Übermikroskop.

Das Emissions-Übermikroskop hat bei kleinen Vergrößerungen vielerlei Anwendung gefunden, von denen die wichtigsten sind: Studium der glühenden und lichtelektrischen Kathoden, so der Oxyd- und Azidkathoden, Aufdampfkathoden, der Thoriumkathoden usw.; Untersuchung von Oberflächenschichten und ihrer Änderung, insbesondere von monoatomaren Schichten; Beobachtung von glühenden Metallen und ihrer kristallinen Struktur, insbesondere der Gefügeumstellungen, der Um- und Sammelkristallisation usw.

Alle diese, aber auch andere Beobachtungen sind grundsätzlich mit dem Emissions-Übermikroskop zu wiederholen und lassen mancherlei Neues erwarten. Heute liegen erst wenige Aufnahmen vor, von denen einige Beipsiele herausgegriffen seien, und zwar außer dem Bild einer Oxydkathode drei Bilder von Metallstrukturen, zum Teil mit Emissionszentren: Nickel

Fig. 15. Nickelstrukturbild mit Bariumtröpfchen nach Brüche und Knecht, Maßstab 500 : 1.

Fig. 16. Nickelstrukturbild mit Störungsgebieten nach Mecklenburg, Maßstab 3000 : 1.

Fig. 17. Molybdänstrukturbild. Übersichtsaufnahme nach Mahl, Maßstab 500 : 1.

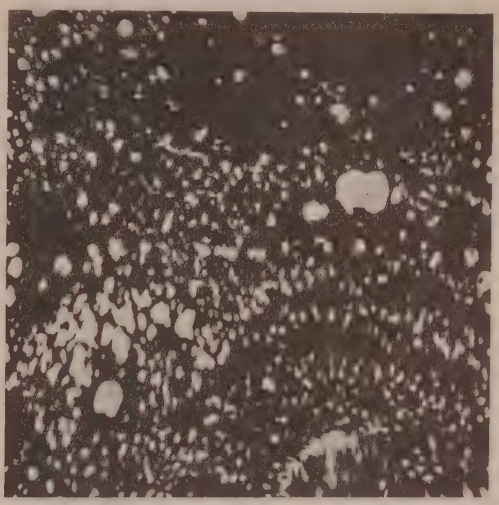


Fig. 18. Thoriertes Molybdän mit Emissionszentren nach Boersch, Maßstab 2000 : 1.

mit Barium- bzw. Bariumoxydresten, Molybdän und Molybdän mit Thoriumzentren.

Die Oxydkathode (Fig. 13) wurde durch sehr dünne Pastierung einer indirekt geheizten polierten Nickelkathode mit Strontium-Bariumoxyd erhalten. Diese Aufnahme von Mecklenburg[41]), die in 3000facher Vergrößerung wiedergegeben ist, zeigt sehr feine Emissionszentren, die gebietsweise stärker oder schwächer emittieren. Die zweite Aufnahme (Fig. 14) gibt eine ursprünglich gleichartige Kathode in einem späteren Aktivierungszustande wieder. Die Oxydschicht scheint inzwischen weitgehend zersetzt zu sein. Das aktive Strontium bzw. Barium hat sich auf der Nickelfläche in feinster Schicht niedergeschlagen, so daß neben einzelnen kräftigen Emissionszentren die Metallstruktur (Gleitlinien und Korngrenzen) sichtbar wird. Die regelmäßigen Streifen der wieder in 3000facher Vergrößerung wiedergegebenen Aufnahme sind etwa 500 mμ voneinander entfernt. Sie sind also im Lichtmikroskop noch sichtbar, da ihnen feine Wellen im Metall entsprechen. Daß heute auch bei den Strukturbildern bereits ein beachtlicher Fortschritt erzielt ist, läßt der Vergleich der Fig. 15 und 16 erkennen. Fig. 15 zeigt die schon mehrfach erwähnte, besonders scharfe Aufnahme aus dem Jahre 1934. Dieser in 500facher Vergrößerung wiedergegebenen Aufnahme ist in Fig. 16 eine der ersten Nickelstrukturbilder in sechsmal so hoher Vergrößerung gegenübergestellt. Die Schärfe der Aufnahme darf nicht an den Rändern der unscharf begrenzten, dunkel erscheinenden Störungsgebiete beurteilt werden, sondern ist aus dem Abstand feiner dunkler Poren und der Grenzkontur zwischen zwei Kristalliten abzuschätzen.

[41]) W. Mecklenburg, Z. Physik. im Druck.

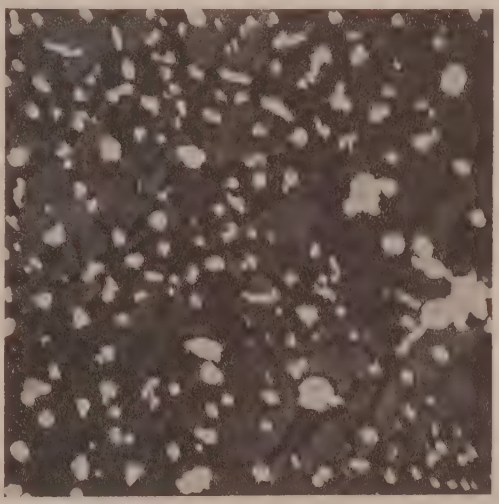


Fig. 19. Thoriertes Molybdän mit Emissionspunkten und Molybdänstruktur nach Kinder, Maßstab 3000:1.

Drei Aufnahmen von thoriertem Molybdän geben die Fig. 17 bis 19 wieder. Das erste Bild, eine Aufnahme von Mahl, zeigt in 500facher Vergrößerung einen Überblick über das Molybdängefüge. Die Korngrenzen sowie die Oberflächenstruktur des Metalls sind deutlich erkennbar.

2000fach vergrößert ist die in Fig. 18 wiedergegebene Aufnahme von Boersch[42]), die den punktweisen Austritt des Thors erkennen läßt. Fig. 19 in abermals höherer, nämlich 3000facher Vergrößerung, gibt eine Aufnahme von Kinder[43]) wieder. Die Aufnahme zeigt in Ergänzung früherer Untersuchungen von Brüche und Mahl[44]), daß die Thoraustrittsstellen mitten in den Kristalliten liegen können. Die Aufnahme läßt jedoch auch erkennen, daß das Thor hier bevorzugt in den Korngrenzen austritt. So sind an mehreren Stellen der Aufnahme derart eng benachbarte Austrittsstellen an den Korngrenzen vorhanden, daß sie auf dem Bild zu einem hellen Strich zusammenfließen.

8. Weiterentwicklung des Emissions-Übermikroskops.

Wir stehen am Anfang der Entwicklung des Emissions-Übermikroskops. Abgesehen von Untersuchungen mit den Geräten des jetzigen Entwicklungsstadiums wird man höhere Auflösungen zu erreichen suchen. Das wird man, abgesehen von großer Sorgfalt in der Herstellung der Elektroden, in der Justierung usw. erreichen, wenn man den Bereich der Fig. 5b, von dem die Elektronen jedes Emissionspunktes zu kommen scheinen, möglichst klein macht. Für die Lösung dieser Aufgabe stehen zwei Wege offen. Erstens Erhöhung der Feldstärken vor der Kathode. Zweitens Ausblendung der Randstrahlen, d. h. Abbildung ausschließlich mit einer Strahlengruppe geringer Apertur.

Zur Ausnutzung der erstgenannten Möglichkeit wird man zunächst daran denken, mit höheren Spannungen zu arbeiten, da bei der allgemeinen Steigerung aller Feldstärken die Feldstärke an der Kathode mitwächst. Ferner wird man ein System bzw. eine Systemeinstellung zu wählen suchen, bei dem die Feldstärke an der Kathode relativ groß wird (Fig. 7). So lassen sich besonders hohe Feldstärken erwarten, wenn man nicht ein Immersionsobjektiv, sondern ein Beschleunigungsfeld mit nachgeschalteter Einzellinse wählt. Auch die Verwendung einer magnetischen Linse in einem stark abfallenden elektrischen Feld dürfte vorteilhaft sein. Jedoch auch bei Immersionssystemen läßt sich durch geeignete Wahl der Elektroden und Elektrodenstellungen[45]) die Feldstärke an der Kathode beeinflussen, ohne daß die Gesamtspannung erhöht wird. Die Anwendung hoher Feldstärken wird dabei seine Grenze an der Durchschlagsfestigkeit der Anordnung bzw. an der einsetzenden Feldemission finden. Günstiger sind in diesem Sinne Kathoden von kleinem Krümmungsradius, so bei Drähten oder kleinen Kugeln[46]). Auch hier dürften sich im Zusammenwirken mit üblichen Abbildungseinrichtungen insofern gewisse Möglichkeiten ergeben, als nur an der Kathode die erforderlichen großen Feldstärken aufzutreten brauchen, die Gefahr der Durchschläge demnach verringert ist.

Sehr hohe Feldstärken erhält man lokal an einer planen Kathode beim Malter-Effekt[47]). Diese Feldemissionskathode ist so aufgebaut, daß über der Aluminiumoberfläche eine isolierende Aluminiumoxydhaut sitzt, deren Oberfläche sich bei Bestrahlung mit Elektronen durch Sekundäremission positiv auflädet. So entsteht an der Oberfläche des Aluminiums ein die Elektronen heraussaugender Kondensator, der wegen der auftreffenden sehr hohen Feldstärke Anlaß zur Feldemission des Aluminiums gibt. Mahl[48]) hat solche Feldschichten durch Netze nachgebildet, wobei sich trotz der Verwendung von Netzen relativ gute Abbildungen offensichtlich deswegen ergaben, weil die Elektronen in der Nähe des Störungsgebietes der Netze schon so weit beschleunigt werden, daß sie hier nicht mehr merklich beeinflußt wurden. Erinnert man sich schließlich an die eigenartige Durchlässigkeit von dünnsten Metallschichten für langsame Elektronen, wie sie von Katz[49]) untersucht wurden, so scheint es durchaus im Bereich der Möglichkeit zu liegen, auch auf diesem Wege weiterzukommen.

Will man die zweite der obengenannten Möglichkeiten, die Aperturbegrenzung der Bündel, ausnutzen, so wird man an derjenigen Stelle in den Strahlengang einzugreifen versuchen, wo die Strahlen, die unter einer bestimmten Neigung von der ebenen Kathode ausgehen, sich zu einer Kreislinie im Querschnitt der Strahlenbündel vereinen. Das ist in der Brennebene des Objektivs der Fall (Fig. 1). Zwar besteht dabei die Gefahr, daß die Blende infolge des Auftreffens der Elektronen stark erhitzt wird, doch scheint diese Schwierigkeit überwindbar zu sein[50]).

Aus Recknagels Theorie folgt, welchen Einfluß eine sich in der Brennebene schließende

[42]) H. Boersch, Naturwiss. **30**, 120 (1942).
[43]) E. Kinder, Naturwiss. (im Druck).
[44]) E. Brüche und H. Mahl, Z. techn. Physik. **16**, 623 (1935); **17**, 81, 262 (1936).
[45]) E. Brüche, Arch. Elektrotechn. **29**, 651 (1935).
[46]) E. W. Müller, Z. Physik **108**, 668 (1938).
[47]) L. Malter, Phys. Rev. **50**, 48 (1936).
[48]) H. Mahl, Z. techn. Physik **18**, 559 (1937) und **19**, 313 (1938).
[49]) H. Katz, Ann. Phys. **33**, 160, 169 (1938).
[50]) H. Boersch, Naturwiss. **30**, 120 (1942).

Irisblende auf die Abblendung der von der Kathode flach ausgehenden Strahlen und damit auf die Erhöhung der Auflösung hat. Bei Berücksichtigung des sphärischen und chromatischen Fehlers findet Recknagel für das Auflösungsvermögen A (als Durchmesser des Zerstreuungskreises)

$$A = A_0 \sin\beta\,(1 - \cos\beta),$$

wobei A_0 das Auflösungsvermögen ohne Abblendung bedeutet und die Abblendung die Emission im Winkelbereich zwischen 0 und β zuläßt.

Für die durchgelassene Intensität J ergibt sich, bezogen auf die gesamte, von einem Punkt ausgehende Intensität J_0

$$J = \frac{J_0}{2}\,(1 - \cos 2\beta).$$

Das Ergebnis der Rechnung ist in Fig. 20 aufgetragen. Bei einer Verringerung des Strahlungsdurchmessers in der Brennebene auf 70 Proz. wird die durchgelassene Intensität auf 50 Proz. reduziert. Dabei verbessert sich das Auflösungsvermögen in relativ starkem Maße, nämlich um den Faktor 5.

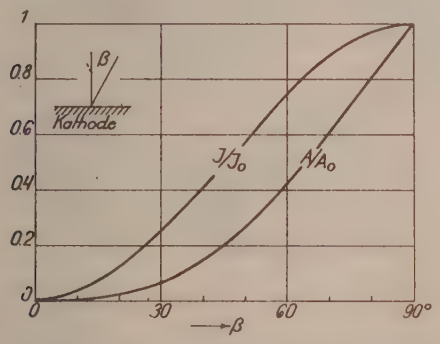


Fig. 20. Intensität J und Auflösung A in Abhängigkeit von dem Winkelbereich, dessen Strahlen einen Beitrag zum Bilde liefern, unter Bezug auf Intensität J_0 und Auflösung A_0 ohne Abblendung nach Recknagel.

Es bleibt noch die Frage nach Ort und Größe der Blende. Einzusetzen ist die Blende in der Brennebene des Objektivs, d. h. dort, wo die Strahlen bestimmter Ausgangsrichtung auf Kreislinien geordnet sind, so daß ein Eingreifen leicht möglich ist. Diese Brennebene liegt im allgemeinen in der Nähe der Anodenblende. Man wird daher zunächst an die Verkleinerung der Anodenblende denken. Fürchtet man die Beeinflussung des Potentialfeldes durch die Blende und die dadurch bedingte Beeinflussung des Strahlenganges, so würde man die Blende in der Ebene etwa dort aufzustellen haben, wo die Potentialfläche eben oder das Feld Null ist. Ob es gelingt, die Brennebene nahezu an diese Stelle durch geeignete Ausbildung des Systems zu legen, müßten Versuche zeigen. Die Breite des Bündels, wenn man von der Linsenwirkung absieht, den Abstand zwischen Kathode und dem betrachteten Querschnitt zu 1 cm ansetzt und $\varepsilon = 0{,}1$ Volt, $U = 40000$ Volt wählt, ergibt sich zu

$$\sqrt{\frac{\varepsilon}{U}} \cdot 1\text{ cm} = 0{,}015\text{ mm}.$$

Die Blende hätte also einen Durchmesser von 0,01 mm und darunter zu erhalten.

Beim Einsetzen dieser sehr feinen Blende muß auch beachtet werden, daß, abgesehen von der Auslösung sekundärer Elektronen, an ihren Rändern in ähnlicher Weise eine Beugung stattfinden wird, wie in dem Objektivrand des Fernrohres, und daß so ein Einfluß auf die Auflösung ausgeübt wird, der um so mehr ins Gewicht fällt, je stärker die Abblendung ist. Damit ist eine Frage angeschnitten, die noch in anderer Beziehung interessant ist. Die Recknagel'sche Theorie geht, wie wir in Abschnitt 3 sahen, überhaupt nicht auf die Beugung ein, sondern ausschließlich auf die Linsenfehler als Einflüsse, die die Auflösung begrenzen. Da die aus der Kathode austretenden Elektronen über die volle Halbkugel verteilt sind und — ohne Abblendung — alle von dem Objektiv erfaßt werden, liegt hier ein optisch durchaus neuartiger Fall vor, bei dem man nicht ohne weiteres sieht, welche Rolle die Beugung spielt. Blendet man dagegen Randstrahlen ab, so ist der Fall dem des Licht-Emissionsmikroskops in Parallele zu setzen, denn auch dort bedingt der Rand des Objektivs Beugungen, die die Auflösungen begrenzen[51]).

Besonders interessant dürfte die Entwicklung des Emissions-Übermikroskops werden, wenn es gelingt, lichtelektrische Elektronen zu benutzen.

[51]) Anm. bei der Korr. In einer soeben erschienenen Arbeit Z. techn. Physik 23, 129 (1942) berücksichtigt Boersch einerseits die mit der Verengung der Aperturblende abnehmenden Linsenfehler, andererseits die stärker hervortretenden Fehler durch Beugung am Blendenrand. So ergibt sich ein optimaler Wert für den Durchmesser der Aperturblende, den er zu 4 μ abschätzt. Boersch glaubt so die Auflösung bei seiner Anordnung von 70 einige 10 mμ verbessern zu können. — Der Verf. vermutet, daß man bei weiterer Verbesserung der Methodik auch ohne Aperturblenden 10 mμ erreichen kann. Bereits heute hat Mecklenburg — bei allerdings nicht sehr hohen Ansprüchen an die Beweiskraft — gelegentlich Einzelheiten von 20 mμ Abstand auf seinen Aufnahmen beobachtet. Mit Aperturblende würde man die 10 mμ-Grenze sicherlich erheblich unterschreiten können.

In diesem Falle könnte man Oberflächenabbildungen bei beliebigen Temperaturen im übermikroskopischen Gebiet durchführen, doch sind wegen der breiteren Geschwindigkeitsverteilung dieser Elektronen hier neue Schwierigkeiten zu erwarten.

Wir wissen heute noch nicht, ob der Weg der Emissions-Übermikroskopie nützlich weiterführen wird, ein Hinweis, der jedoch nicht bedeuten soll, daß der Verfasser dem Emissions-Übermikroskop keine Chance gibt. Man wird sich vielmehr auch hier davor hüten müssen, sowohl Wege der Elektronenmikroskopie für ungangbar zu halten, als auch den Wert neuer Wege und Resultate zu überschätzen. Gerade der vorliegende Bericht mahnt zur Vorsicht, brachte er doch im Gegensatz zu pessimistischen Vorurteilen den Nachweis: Das „Elektronenmikroskop mit sehr starker Vergrößerung" zur Untersuchung von Emissionsvorgängen[52]), d. h. das Emissions-Übermikroskop, ist mit elektrischen und magnetischen Linsen zu verwirklichen.

Zusammenfassung.

Es wird im Zusammenhang auf die heute vorliegenden Bestrebungen eingegangen, das Emissions-Elektronenmikroskop zu einem Emissions-Übermikroskop auszubilden und zu benutzen. Die Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops ist bereits mit elektrischen und magnetischen Linsen überschritten. Die ersten Aufnahmen von übermikroskopischen Einzelheiten bei Oxyd-, Thorium-Molybdänkathoden- und Strukturbildern liegen vor. Im Rahmen des Referats über diese Ergebnisse werden Fragen der Auflösungsbestimmung und der Verbesserung des Emissions-Übermikroskops diskutiert.

[52]) E. Brüche, Naturwiss. **20**, 49 (1932).

Aus dem Forschungslaboratorium für Elektronenphysik, Berlin-Lichterfelde-Ost.

Zur Abbildungstreue von nahe der Auflösungsgrenze liegenden Objektstrukturen bei Lichtmikroskop und Elektronenmikroskop.

Von Manfred von Ardenne (Berlin-Lichterfelde-Ost).

(Eingegangen am 15. Mai 1942)

Sehr viele Objekte der Kolloidchemie besitzen Abmessungen oder Strukturen mit Einzelheiten, die nahe der heutigen Auflösungsgrenze des Elektronenmikroskopes liegen. Bekanntlich werden beim Lichtmikroskop Strukturen, die dicht an seiner Auflösungsgrenze liegen, nicht mehr objektgetreu wiedergegeben. Die Frage nach der Abbildungstreue solcher Einzelheiten beim Elektronenmikroskop[1]) hat daher für die Kolloidchemie besonderes Interesse.

Das Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskopes ist heute sicher 100mal so groß wie dasjenige des normalen Lichtmikroskopes. Daß diese Behauptung berechtigt ist, soll die Gegenüberstellung der Fig. 1 und 2 zeigen. Die Elektronenaufnahme (Fig. 1) bringt ein mit dem Universal-Elektronenmikroskop des Verfassers kürzlich gewonnenes und 210000fach vergrößertes Bild von Zinkoxydrauchkristallen, die mit einem etwa 4 mμ dicken Reaktionsmantel von basischem Zinkkarbonat überzogen sind. Zum Vergleich ist in Fig. 2 eine lichtmikroskopisch gewonnene und 2100fach vergrößerte Aufnahme des Mittelteils der Diatomee Arachnoidiscus sp. gebracht. Wir sehen, daß beispielsweise die stäbchenförmigen Strukturierungen im Mittelteil der angegebenen Diatomee noch nicht einmal in gleicher Schärfe erscheinen wie die Kristallstäbchen in der 100mal stärker vergrößerten Elektronenaufnahme. Die beiden Objekte sind so ausgesucht, daß wenigstens einige Einzelheiten gewisse Ähnlichkeiten und annähernd gleiche Abmessungen relativ zum Auflösungsvermögen haben. Der Vergleich mußte an diesen beiden verschiedenartigen Objekten durchgeführt werden, weil zur Zeit noch keine Testobjekte für Elektronenmikroskope zur Verfügung stehen, die bei 100mal kleinerer Gitterkonstante die gleiche Geometrie wie die lichtmikroskopischen Testobjekte aufweisen. Selbstverständlich wurde die lichtmikroskopische Aufnahme unter für dieses Objekt besonders guten optischen Verhältnissen durchgeführt, d. h. bei blauem Licht und unter Verwendung eines 2 mm-Apochromaten mit $nA = 1{,}4$ und zentraler Beleuchtung bei einer Kondensorapertur von $A_k \approx 0{,}2$. Größere Kondensoraperturen ergaben bei diesem Objekt,

[1]) Auf die schon früher untersuchte Relation zwischen Erkennbarkeit der Objektgestalt und Auflösungsvermögen soll in diesem Zusammenhang nicht eingegangen werden. Vgl. hierzu B. von Borries und G. A. Kausche, Übermikroskopische Bestimmung der Form und Größenverteilung von Goldkolloiden, Kolloid-Z. **90**, 132 (1940).

Fig. 1. Mit bester Schärfeneinstellung gewonnenes und 210000fach vergrößertes elektronenmikroskopisches Bild von Zinkoxydrauchkristallen mit einem etwa 4 mμ dicken Reaktionsmantel von basischem Zinkkarbonat.

dessen Aufbau nicht durch Lichtabsorption, sondern durch Unterschiede der Brechung (wie bei vielen anderen Objekten der Lichtmikroskopie) sichtbar wird, eine kritische Abnahme der Bildqualität.

Sowohl die feineren Strukturen des Elektronenbildes Fig. 1 als auch diejenigen des lichtmikroskopischen Bildes Fig. 2 liegen dicht an der Grenze der Leistungsfähigkeit der beiden Instrumente. Trotzdem ist doch der Abbildungscharakter ein stark verschiedener. Unter den Bedingungen der lichtmikroskopischen Aufnahme Fig. 2 genügen (bei der angegebenen und der Objektart angepaßten Kondensorapertur) schon geringe Änderungen des Scharfstellungstriebes, um beispielsweise die schon erwähnten radialliegenden dunklen Stäbchen hell erscheinen zu lassen. Zwei lichtmikroskopische Bilder von dem Objektausschnitt Fig. 2 mit etwas verschiedenen Gegenstandsweiten sind in Fig. 3 und 4 gebracht. Die Vergrößerung der Gegenstandsweite bei der Aufnahme Fig. 4 betrug gegenüber den Bedingungen der Fig. 3 etwa 1—2 μ. Fast hat eine Umkehrung der Helligkeitswerte von einem Positiv zu einem Negativ stattgefunden. Ohne die Möglichkeit weiterer Beobachtungen oder indirekter Schlüsse könnten allein aus diesen Bildern keine eindeutigen Rückschlüsse auf die wahre Verteilung der Objektsubstanz gezogen werden. Grundsätzlich kann bekanntlich auch beim Lichtmikroskop durch Vergrößerung der Kondensorapertur bis auf den Wert der Objektiv-

Fig. 2. Mit bester Schärfeneinstellung gewonnenes und 2100fach vergrößertes lichtmikroskopisches Bild des Mittelteils der Diatomee Arachnoidiscus sp.

Fig. 3. Lichtmikroskopisches Bild des gleichen Objektausschnittes bei etwas geänderter Schärfeneinstellung.

apertur Eindeutigkeit erreicht werden[2]). Bei dieser Betriebsweise nimmt jedoch besonders für Objekte mit Kontraststeuerung durch Brechungsunterschiede die Bildqualität so stark ab, daß praktisch meist das Arbeiten mit etwas abgeblendetem Kondensor oder schiefer Beleuchtung (also ein Arbeiten mit mehrdeutiger Abbildung) bevorzugt wird.

Eine ähnlich starke Mehrdeutigkeit der Helligkeitswerte in feinsten mindestens etwas periodischen Strukturierungen, wie sie beim Lichtmikroskop in der Regel besteht, ist nach Beobachtungen des Verfassers beim Elektronenmikroskop nicht gegeben. An Hand der mit geänderter Schärfeneinstellung gewonnenen elektronenmikroskopischen Aufnahmen Fig. 5 und 6 des Objektausschnittes Fig. 1 ist zu erkennen, daß die Abhängigkeit der feineren Struktur im Bilde von der Schärfeneinstellung kleiner ist als z. B. bei der lichtmikroskopischen Untersuchung von Diatomeen. Die Hauptabweichung der Bilder mit verschobener Schärfenebene besteht darin, daß je nach der Lage des Objektteiles im abgebildeten Raum die feineren Einzelheiten früher oder später in der zunehmenden Unschärfe untertauchen. Aus diesen Beobachtungen folgt ein weiterer Vorteil des Elektronenmikroskopes: Das elektronenmikroskopische Bild erlaubt von an der Grenze des Auflösungsvermögens liegenden Strukturen weitergehende Aussagen als das lichtmikroskopische Bild.

Die Theorie der oben an einem Beispiel erläuterten Mehrdeutigkeit, die die Abbildung im Lichtmikroskop meist besitzt, liegt schon seit längerer Zeit vor[3]). In dem von D. Driessen[4])

[2]) M. Berek, Über die Kohärenz und Konsonanz des Lichtes. IV. Abbildung nicht selbstleuchtender Objekte. Z. Physik **40**, 421 (1926).

[3]) Vgl. z. B. K. Strehl, Einführung in die beugungstheoretische Optik (Berlin 1907).

[4]) D. Driessen, Einfluß einiger Abbildungsfehler eines Mikroskopobjektives auf die Abbildung eines Beugungsgitters. Z. Physik **18**, 131 (1923).

Fig. 4. Lichtmikroskopisches Bild des Objektausschnittes der Fig. 3 nach Vergrößerung der Gegenstandsweite um 1—2 μ.

Fig. 5. Elektronenmikroskopisches Bild des Objektausschnittes der Fig. 1 bei etwas geänderter Schärfeneinstellung.

Fig. 6. Elektronenmikroskopisches Bild des gleichen Objektausschnitts wie Fig. 5 nach Verschiebung der Schärfenebene um einige μ.

untersuchten Fall eines Gitters und abgeblendetem Kondensor ist die periodische Bildumkehr besonders deutlich ausgeprägt. Hier vertauschen je nach der Einstellungsebene Gitterstege und Gitterlücken ihre Plätze. (Fall I und II in Fig. 7 B.) Die Periode der Bildumkehrungen in Achsenrichtung ist proportional $\frac{\lambda}{A^2}$ (λ = Wellenlänge des Lichte, A = Apertur). Im oben abgebildeten Fall von Spalten bzw. Löchern im Objekt liegen die Verhältnisse etwas verwickelter, so daß eine periodische Umkehr nicht auftritt. Immerhin zeigen die Bilder Fig. 3 und 4 bei den stäbchenförmigen Strukturierungen bereits den nahezu vollständigen Wandel vom Positiv zum Negativ. Unter den Bedingungen, die beim Elektronenmikroskop beste Auflösung ergeben, hat $\frac{\lambda}{A^2}$ ungefähr die gleiche Größe[5]) wie beim Lichtmikroskop, d. h. die Umkehrperiode ist absolut genommen etwa unverändert geblieben, jedoch relativ zur aufgelösten Strecke 100 mal größer geworden. Trotzdem kann diese Tatsache nicht zur Erklärung des Unterschiedes herangezogen werden, weil infolge der einige 100 mal kleineren Objektivapertur beim Elektronenmikroskop auch die Tiefenschärfe einige 100 mal größer geworden ist.

Die Erklärung des experimentell beobachteten Unterschiedes dürfte darin liegen, daß beim Lichtmikroskop die Grenze der Auflösung allein

[5]) λ ist bei 60 kV ungefähr $^1/_{100000}$stel, A ungefähr $^1/_{300}$stel.

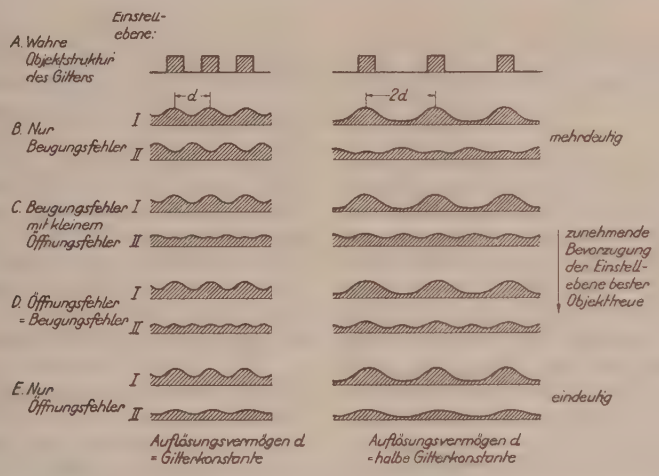


Fig. 7. Darstellung zur Objekttreue der Abbildung bei Überlagerung von Beugungsfehler und Öffnungsfehler.

durch die Strahlenbeugung am Objekt bestimmt wird, während beim Elektronenmikroskop die Grenze von der Beugung und dem Öffnungsfehler des Objektives abhängt. Eine qualitative schematische Darstellung zur Erläuterung des Einflusses von Beugungs- und Öffnungsfehler auf die Objekttreue der Abbildung bringt Fig. 7. In dem linken Teil der Zeichnung ist als Objekt *A* ein Gitter zugrunde gelegt, dessen Konstante gerade gleich dem Auflösungsvermögen gewählt ist, während rechts als weiteres Beispiel ein Gitter angenommen ist, dessen Konstante den doppelten Wert des Auflösungsvermögens aufweist. Der Fall des Lichtmikroskopes (bei üblicher Bemessung der Kondensorapertur) ist in Fig. 7B für die zwei Einstellebenen I und II charakterisiert. Wir sehen die schon besprochene Mehrdeutigkeit veranschaulicht. Während bei Beschränkung des Strahlenganges auf die nullte und erste Ordnung (Gitterkonstante $= d$) die wahre Lage der Gitterstege nicht angegeben werden kann, nimmt die Eindeutigkeit bei Einbeziehung der höheren Ordnungen (z. B. der zweiten Ordnung, Gitterkonstante $= 2\,d$) zu. Bestimmt der Öffnungsfehler allein die Bildschärfe (z. B. bei ungünstiger Einstellung des Elektronenmikroskopes), so tritt gemäß Fig. 7E bei Übergang von der Ebene größter Schärfe I auf die Ebene II nur eine Verwaschung der Kontur, nicht jedoch eine Verschiebung der Maxima ein. Die Abbildung ist eindeutig. Die günstigste Betriebsweise des Elektronenmikroskopes ist dann gegeben, wenn Öffnungsfehler und Beugungsfehler einander angepaßt sind[6]). Dieser Fall ist in Fig. 7D dargestellt. Bei ihm ist die Abbildung schon nahezu eindeutig, denn die Einstellungsebene I ist vor allen anderen durch größere Kontraste ausgezeichnet. So dürften beispielweise die Wellungen bei Einstellungsebene II von Fig. 7D, die eine Gitterkonstante von $\frac{d}{2}$ vortäuschen, meist schon unterhalb der Kontrastschwelle des menschlichen Auges liegen. Der praktische Betrieb des Elektronenmikroskopes bewegt sich zwischen den Fällen C und E von Fig. 7. Um möglichst große Objekttreue der Abbildung bei höchster Auflösung zu erzielen, ist es nach obigen Ausführungen vorteilhaft, den Arbeitspunkt auf der Kurve des resultierenden Fehlers etwas aus dem Minimum nach der Seite des Öffnungsfehlers zu verschieben, d. h. beim Elektronenmikroskop besser mit etwas zu großer als zu kleiner wirksamer Objektivapertur zu arbeiten.

* * *

Für Unterstützung der vorstehenden Arbeit ist der Verfasser der Deutschen Forschungsgemeinschaft sehr verpflichtet. Dem Herrn Prof. F. Jentzsch, Berlin, und Herrn Dr. A Weber, Berlin-Steglitz, dankt der Verfasser für wertvolle Diskussionen und Literaturhinweise.

[6]) M. von Ardenne, Die Grenzen für das Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskopes. Z. Physik **108**, 338 (1938).

Aus dem Laboratorium für Elektronenoptik der Siemens & Halske AG., Berlin-Siemensstadt.

Beitrag zur übermikroskopischen Abbildung bei höheren Drucken.

Von E. Ruska.

(Eingegangen am 13. Mai 1942)

Die Beobachtung von Objekten im Übermikroskop erfolgte bisher fast durchweg im Hochvakuum. Durch diese Untersuchungsbedingung ist neben anderen Gründen der Kreis der im Übermikroskop mit Nutzen beobachtbaren Objekte begrenzter als beim Lichtmikroskop. Wenn auch diese beschränktere Objektauswahl die Entwicklung der Übermikroskopie nicht ernstlich behindert hat, scheint es doch wünschenswert, das Übermikroskop mit einer Einrichtung zu versehen, die die rasche Austrocknung, insbesondere mancher biologischer Objekte, vermindert. Die nachstehend beschriebenen Untersuchungen über die Beobachtbarkeit von sublichtmikroskopischen Objekten bei nur geringem Vakuum sollten daher einerseits einen ersten Schritt zu dem Ziel der Untersuchung von Objekten an Luft darstellen. Es ist jedoch andererseits die übermikroskopische Beobachtung von Objekten bei geringen Gasdrucken deshalb wertvoll, um beispielsweise den Ablauf verschiedenartiger chemischer Reaktionen, insbesondere zwischen festen und gasförmigen Stoffen schon im sublichtmikroskopischen Bereich verfolgen zu können[1]). Auch die Entstehung von Niederschlägen aus verschiedenen Rauchen und Gas- oder Dampfströmen kann so auf dem Objektträger beobachtet werden.

Fig. 1 zeigt schematisch den Querschnitt durch die Versuchsanordnung. Zur Gaszufuhr in die Objektkammer des Übermikroskops wurden zwei miteinander über einen Hahn und eine Kapillare verbundene Vorratsflaschen verwendet, von denen die erste über einen Zweiweghahn leergepumpt bzw. mit Gas gefüllt werden kann, während die zweite über einen Hahn mit der Gaskammer des Übermikroskops verbunden wird. Der Druck in der zweiten Flasche und der Druck in der Gaskammer wird durch zwei verkürzte

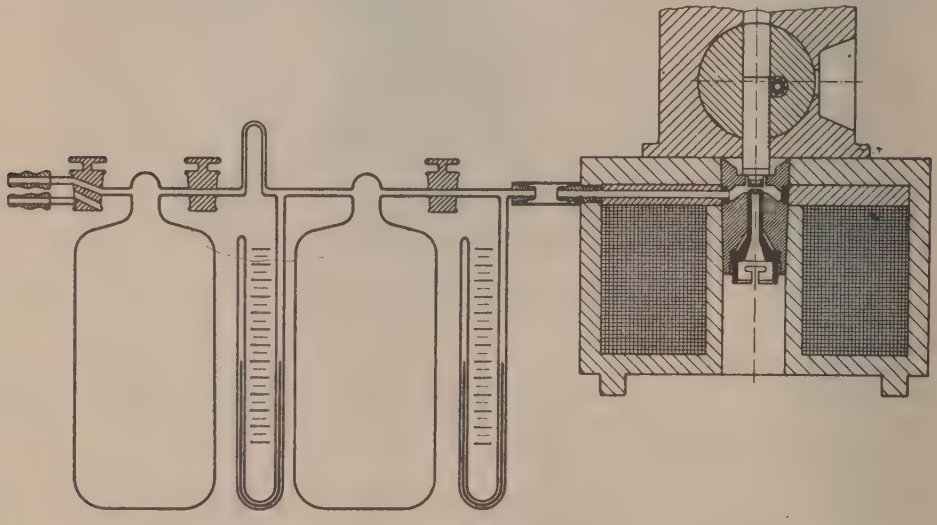


Fig. 1. Schematischer Querschnitt durch die Versuchsanordnung.

[1]) Die mikroskopische Abbildung von elektronendurchstrahlten Objekten in Luft von Atmosphärendruck oder von lediglich vermindertem Druck ist schon früh von R. Rüdenberg vorgeschlagen worden (vgl. z. B. Österreichische Patentschrift Nr. 137611 von 1934). Nach diesem Vorschlag soll das Objekt entweder durch Lenardfenster oder durch ein oder mehrere Drosselblenden vom hochevakuierten Mikroskopraum getrennt werden. F. Krause [Naturwiss. **25**, 817 (1937)] schlug zur Vermeidung der Erhitzung und der Aufladung der Objekte vor, tiefgekühlte und vorionisierte Luft zwischen das Objekt und eine den Lufteintritt in das Vakuum drosselnde Blende zuzuführen. Mit der Aufgabe übermikroskopischer Abbildung von Reaktionsvorgängen und der Zuleitung von Reaktionsgasen bzw. Flüssigkeiten an das Objekt beschäftigt sich ein Vorschlag des Verfassers (vgl. z. B. Schwedisches Patent 101576 von 1938). Ferner findet sich der Vorschlag einer Anordnung zur Heranbringung von Reaktionsstoffen an das Objekt bei M. v. Ardenne und D. Beischer, Z. Elektrochem. **46**, 270 (1940).

Hg-Manometer (Anzeige bis 200 Torr) gemessen. Für Reaktionsuntersuchungen kann die erste Flasche nach dem Leerpumpen beider Flaschen mit dem Reaktionsgas von beispielsweise Atmosphärendruck gefüllt werden. Über die Kapillare wird die zweite Flasche bis zu dem für die Objektbehandlung gewünschten Druck gefüllt. Das Objekt kann zuerst im Hochvakuum scharf eingestellt und beobachtet werden und anschließend dem vorher eingestellten Druck ausgesetzt werden. Weitere Beobachtungen und Aufnahmen können entweder bei diesem Druck oder nach Abpumpen der zugeführten Gasmenge gemacht werden.

Das Gas wird durch eine radiale Bohrung im Spulenmantel bis in den Raum zwischen den beiden Objektivpolschuhen geleitet. Da die Gaszuleitung nicht durch die Polschuhe selbst geführt ist, beeinträchtigt sie nicht die genaue drehsymmetrische Ausbildung des Linsenfeldes. Die Gaskammer wird nach oben durch die auf den objektseitigen Polschuh federnd aufgedrückte Objektblendenfassung, nach unten zu durch eine besondere Drosselblende bzw. einfach durch die Aperturblende des Objektivs abgeschlossen. Der Abschluß der Gaszuleitung und der Gaskammer nach dem übrigen Mikroskopvolumen ist durch die konische Paßfläche des Polschuheinsatzes mit dem Spulenkörper sowie durch die Paßflächen der Blendenfassung und des Objektivblendenträgers mit dem Polschuheinsatz schon sehr gut; er kann, falls nötig, noch durch Zusammenbau der Teile mit Vakuumfett verbessert werden.

Es sind folgende Forderungen bei der Dimensionierung der Gasdruckkammer zu erfüllen. Um die zerstreuende Wirkung des Gases auf die Elektronen klein zu halten, muß die Strecke höheren Drucks klein sein. Damit trotz hohem Gasdruck am Objekt die Spannung am Strahlrohr aufrecht erhalten bleibt, muß der Druckabfall zwischen Gaskammer und Vakuumraum möglichst hoch sein. Die erste Forderung führt zu kleinem Abstand zwischen Objekt und Drosselblenden, beide Bedingungen erfordern kleinen Durchmesser der Drosselblende und Beschränkung des Gasaustauschs zwischen Gaskammer und Vakuumraum auf diese Blenden (Vermeidung von Nebenschlüssen).

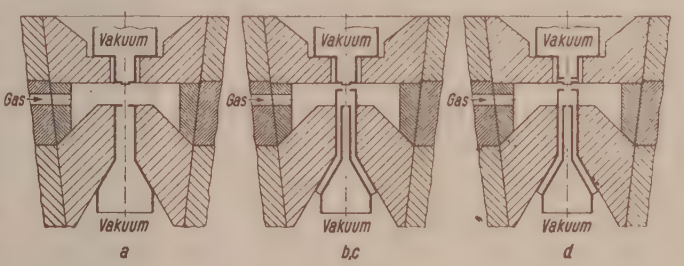


Fig. 2. Die verschiedenen Blendenanordnungen im Objektivpolschuhsystem. a) Als Drosselblende hinter dem Objekt dient die Aperturblende, $f = 1{,}9$ mm, $l = 1$ mm. b) und c) Drosselblende hinter dem Objekt und Aperturblende sind getrennt, $f = 2{,}65$ mm, b) $l = 0{,}7$ mm, c) $l = 0{,}2$ mm. d) Außer der Aperturblende ist vor und hinter dem Objekt je eine Drosselblende angeordnet, $f = 2{,}65$ mm, $l = 0{,}9 + 0{,}4$ mm.

Es wurden folgende vier Anordnungen untersucht (Fig. 2a bis d): Die erste besonders einfache Anordnung erhält man, wenn man einerseits das Gas nur auf die eine (untere) mit Objekten beschickte Seite des Objektträgerfilmes bringt und andererseits die Aperturblende des Objektivs als Drosselblende benutzt (Fig. 2a). Sie hat den Nachteil, daß die Länge der Gaskammer annähernd von der Größe der Linsenbrennweite ist, da die Aperturblende etwa an dem für die Ausblendwirkung auf die Strahlen günstigsten Ort, dem bildseitigen Brennpunkt der Linse angeordnet ist. Nur an dieser Stelle beschränkt eine gegen das Objektfeld kleine Aperturblende den Bildausschnitt nicht, da sich hier die Elementarbündel kreuzen, so daß im Zwischenbild das ganze Objektfeld sichtbar ist und außerdem haben an dieser Stelle die Elementarbündel den größten Durchmesser, so daß durch die Objektivblende die wirksamste Aperturbeschränkung für alle Elementarbündel gegeben ist. Die bei den Versuchen mit dieser Anordnung eingestellte Druckstrecke zwischen Objektblende und Drosselblende betrug 1 mm bei einer Brennweite des Objektivs von 1,9 mm[2]).

Eine zweite Anordnung erhält man, wenn man Drosselblende und Aperturblende trennt und dafür sorgt, daß erstere dicht am Objekt liegt und daß das durch ihre Öffnung aus der Gaskammer strömende Gas sofort aus dem Strahlvolumen durch radiales Abpumpen entfernt wird, so daß hinter der Aperturblende praktisch wieder Hochvakuum herrscht (Fig. 2b und c). Der Abstand zwischen Objekt und Druckabfallblende

[2]) Während der Versuche mit dieser Anordnung erhielt Verf. Kenntnis von einer zum Druck eingereichten Arbeit von M. v. Ardenne [Z. phys. Chemie A 190 (1942), im Druck], in der über Erfahrungen mit einer dieser Anordnung entsprechenden Objektreaktionskammer berichtet wird.

kann auf diese Weise bis auf 1 bis 2 Zehntel mm, d. h. um eine Größenordnung gegenüber der Einblendenanordnung gekürzt werden. Die Wirkung der Gasstrecke allerdings wird nicht im selben Maß vermindert, da sich in beiden Fällen hinter der Drosselblende noch eine gewisse Strecke befindet, längs der der Gasdruck auf den Gefäßdruck abnimmt. So wurde bei einer Brennweite des Objektivs von 2,65 mm der Abstand zwischen Objekt und Drosselblende von 0,7 (2b) auf 0,2 mm (2c) verringert, ohne daß der für dieselbe Bildauflösung zulässige Maximaldruck auf das $3^1/_2$fache stieg. Ein weiterer Vorteil dieser Anordnung ist ihre Verwendbarkeit für Beugungsuntersuchungen, da der Beugungskegel durch die Drosselblende bei kleinem Objektabstand noch nicht ausgeblendet wird.

In den bisher beschriebenen Anordnungen werden die Filme, auf denen meist die Objekte aufgebracht werden, einem einseitigen Druck ausgesetzt. Durch die mikroskopische Beobachtung von nur wenig intensiv bestrahlten Objektfilmen wurde festgestellt, daß die Filme auf Objektblenden von 0,05 mm Durchmesser erst bei einseitigen Drucken über etwa 200 Torr manchmal einreißen. Bei noch kleineren Öffnungen der Objektblenden halten die Filme sogar oft Atmosphärendruck aus. Trotzdem wurde auch eine Anordnung nach Fig. 2d untersucht, bei der das Gas auf beide Objektseiten strömt, und bei der zu beiden Seiten des Objekts eine Drosselblende nach dem Vakuumraum zu vorgesehen ist. In dieser Anordnung wurden die Objekte auch durch Atmosphärendruck nicht zerrissen, wie sich aus der übermikroskopischen Beobachtung nach vorübergehendem Anschließen der Objektkammer an die Außenluft ergab. Die Druckstrecke vor dem Objekt betrug 0,9 mm, die hinter dem Objekt 0,4 mm bei einer Brennweite des Objektivs von 2,65 mm.

Beim Objektwechsel wird in der üblichen Objektwechseleinrichtung des Siemens-Übermikroskops nur eine die Objektblende enthaltende Blendenfassung ausgeschleust, während das Objektiv selbst im Mikroskop verbleibt. Ein Eingriff in das mit dem Objektiv verbundene Gaszufuhrsystem erfolgt daher beim Objektwechsel nicht, was einen besonders raschen Objektwechsel (1 min) gestattet. Die Objektblendenfassung wird nach dem Einschleusen durch einen Trieb auf den Polschuh zu bewegt und auf eine die Querbewegung des Objekts gestattende Rutschfläche des Polschuhs federnd aufgedrückt. Es kann daher die Druckkammer gegen das übrige Mikroskopvolumen dadurch weit geöffnet werden, daß die Blendenfassung vom Polschuhsystem abgehoben wird; in diesem Zustand läßt sich die Druckkammer zunächst gleichzeitig mit dem Mikroskopvolumen evakuieren, ohne daß ein Überdruck in der Kammer auftritt (bei auf den Polschuh aufgedrückter Blendenfassung kann beim Evakuieren des Mikroskops im Falle einseitiger Gaszufuhr aus der Gaskammer an das Objekt der entstehende Überdruck in der Gaskammer das Objekt zerstören). Ferner kann bei bereits evakuiertem Mikroskop die gasgefüllte Kammer durch Abheben der Blendenfassung vom Polschuh rascher wieder evakuiert werden, als es durch die Drosselblende und die Objektblende allein möglich ist. Will man das Abheben des Objekts vermeiden, um z. B. den einmal eingestellten Bildausschnitt ohne jede Nachstellung des Objekts zu behalten, kann die Gaskammer auch über eine zweite, an die Vorvakuumpumpe des Mikroskops anschließbare Leitung (in Fig. 1 und 2 weggelassen) rasch evakuiert werden. Fig. 3 zeigt die Ansicht des Siemens-Übermikroskops mit der Einrichtung zur Gaszufuhr.

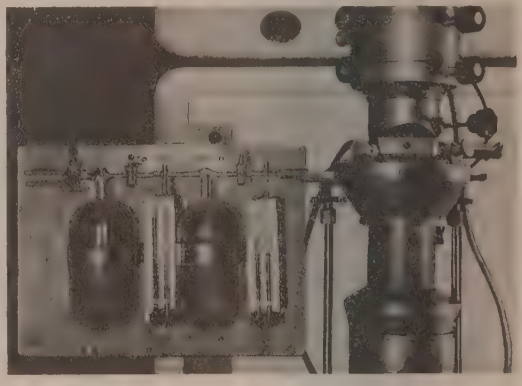


Fig. 3. Ansicht der Einrichtung für Gaszufuhr am Siemens-Übermikroskop.

Steigert man während der Beobachtung den Druck, so beobachtet man zunächst eine geringe Verdunkelung des Bildes, die daher rührt, daß die durch das Gas stärker abgestreuten Elektronen von der Objektivblende abgefangen werden und so für das Bild verlorengehen. Bei weiterer Drucksteigerung werden die Bildkontraste deutlich schlechter, weil die jetzt größer gewordene Anzahl stärker gestreuter Elektronen das Bildfeld diffus belichten und auch die sonst dunklen Bildstellen erhellen. Bei noch stärker wachsendem Druck wird auch die Auflösung des Bildes immer schlechter, weil nun auch um sehr kleine Winkel gestreute Elektronen genügend häufig auftreten. Bei noch höherem Druck und insbesondere bei

längerer Druckstrecke verschwinden schließlich alle Kontraste und das Bildfeld wird völlig diffus beleuchtet. Bei Erreichung eines Druckes, der von der Pumpleistung und von der Anordnung der Pumpe sowie von der Ausbildung des Elektronenstrahlrohrs abhängt, kann der sehr geringe Betriebsstrom des Strahlrohrs (Strahlstrom 10 bis 30 μA) nicht mehr genügend konstant gehalten werden, da Gasentladungen auftreten. Diese Auswirkung der Gaszufuhr an das Objekt kann durch die Anordnung einer zweiten Hochvakuumpumpe am Strahlrohr verhindert werden, wenn gleichzeitig für eine gute Drosselung des Gasaustausches zwischen Strahlrohr und Objektkammer gesorgt wird. Das zu den Versuchen verwendete serienmäßige Übermikroskop ließ ohne störende Gasentladungen im Strahlrohr H_2-Drucke bis über 160 mm in der Gaskammer zu. Bei einseitiger Gaszufuhr an das Objekt können ferner, wie schon erwähnt, bei Drucken oberhalb 200 Torr die Objektfilme einreißen.

Bei den Versuchen fiel auf, daß die Objektfilme bei je nach Gasart verschieden hohen Drucken zerstört wurden und daß die Objektzerstörung gerade bei zweiseitiger Gaszufuhr an das Objekt schon bei besonders geringem Druck auftrat. Zur Klärung wurden daher Objektfilme einerseits im Hochvakuum bei hoher Strahlstromdichte (sehr helle Bilder im Maßstab 23000:1) bestrahlt. Dieselben Filme wurden andererseits ohne gleichzeitige Bestrahlung Gasdrucken bis 200 mm Hg ausgesetzt und nach Abpumpen des Gases wieder durchstrahlt und beobachtet. Durch beide Belastungen wurden die Filme nicht zerstört. Zerstörungen erfolgten jedoch schon bei geringer Strahlstromdichte (zur Scharfeinstellung eben noch genügend helle Bilder), wenn ein von der Gasart abhängiger niedrigerer Druck als 200 Torr während der Bestrahlung zugelassen wurde. Ohne Objektzerstörung konnten in der Anordnung nach Fig. 2c mit Wasserstoff Aufnahmen bis etwa 160 Torr, bei Luft bis etwa 40 Torr, bei Chlor bis etwa 20 Torr gemacht werden. Diese Versuche legen nahe, daß die Objektfilme durch aus dem Gas auftreffende sekundäre Korpuskeln zerstört werden, deren Energie wegen ihrer geringen Geschwindigkeiten praktisch völlig im Film absorbiert wird. Über die Möglichkeit, die Objektzerstörung durch sekundäre Korpuskeln zu vermeiden, sowie über Ladung und Polarität dieser Sekundärteilchen könnten Versuche mit gegenüber dem Objekt vorgespannten Absaugelektroden Aufschluß geben.

Die Fig. 4 und 5 zeigen bei 72 kV Strahlspannung sowie 23000facher elektronenoptischer und 80000facher Wiedergabe-Vergrößerung identischer Objektausschnitte von kolloidem Silber bei den verschiedenen Blendenanordnungen der Fig. 2a bis d die Wirkung steigenden Drucks verschiedener Gase auf die Auflösung und den Kontrast der Bilder. Die Versuchsreihen wurden jeweils bis zur Zerstörung der Filme fortgesetzt. Die Aufnahmen zeigen für Wasserstoff (Fig. 4) und Luft (Fig. 5) die Bildveränderungen bei steigendem Druck. Aus solchen Bildreihen kann die Anordnung bestimmt werden, bei der das Auflösungsvermögen und die Kontraste mit steigendem Druck am wenigsten leiden[3]). Man erkennt bei jeweils gleichen Drucken die mit der Verlängerung der Druckstrecke beim Übergang von Anordnung 2b zu Anordnung 2c steigende Streuung sowie die weiter erhöhte Streuung in der zweiseitigen Anordnung 2d. Fig. 6 zeigt für die Anordnung 2b mit kurzer Druckstrecke, in der die Objekte ohne Zerstörung bis zu den größten Drucken beobachtet werden konnten, die gegenüber Luft geringere Streuwirkung des Wasserstoffs und die größere des Chlor bei zwei verschiedenen Drucken.

Versuche bei geringeren Strahlspannungen (bis zu 30 kV) erwiesen sich bei der relativ hohen elektronenoptischen Vergrößerung als schwieriger, da die Objekte zur Erzielung genügender Bildhelligkeit (Scharfstellung) mit entsprechend größerer Stromdichte bestrahlt werden müssen, so daß aus den oben geschilderten Gründen schon bei Drucken von 5 bis 20 Torr Zerstörungen eintreten, die dem Aufnehmen gleicher Bildausschnitte ein Ende setzen. Bei höheren Strahlspannungen dürften aus entsprechenden Gründen höhere Gasdrucke erreicht werden, sowie bei gleichen Drucken das Auflösungsvermögen besser sein.

Auch für die zweite Aufgabenstellung, die Beobachtung von chemischen Reaktionen des Objekts mit dem zugelassenen Gas, geben die Versuchsreihen ein Beispiel. Vergleicht man in Fig. 7 die Teilbilder unter Hochvakuum und unter Chlordruck, so fällt auf, daß aus den rundlichen Silberkörnern der Hochvakuumaufnahme in der Aufnahme bei 5 Torr Chlordruck an mehreren

[3]) Im vorliegenden Fall können jedoch nur die Anordnungen 2b bis 2c unmittelbar verglichen werden, da sich nach Abschluß der Versuchsreihen herausstellte, daß im Fall der Anordnung 2a eine zusätzliche starke Drosselung in der Gaszuleitung unmittelbar vor ihrer Einmündung in den Raum zwischen beiden Polschuhen vorhanden war, so daß die Drucke am Objektort wahrscheinlich erheblich niedriger waren, als dem Manometerstand entsprach.

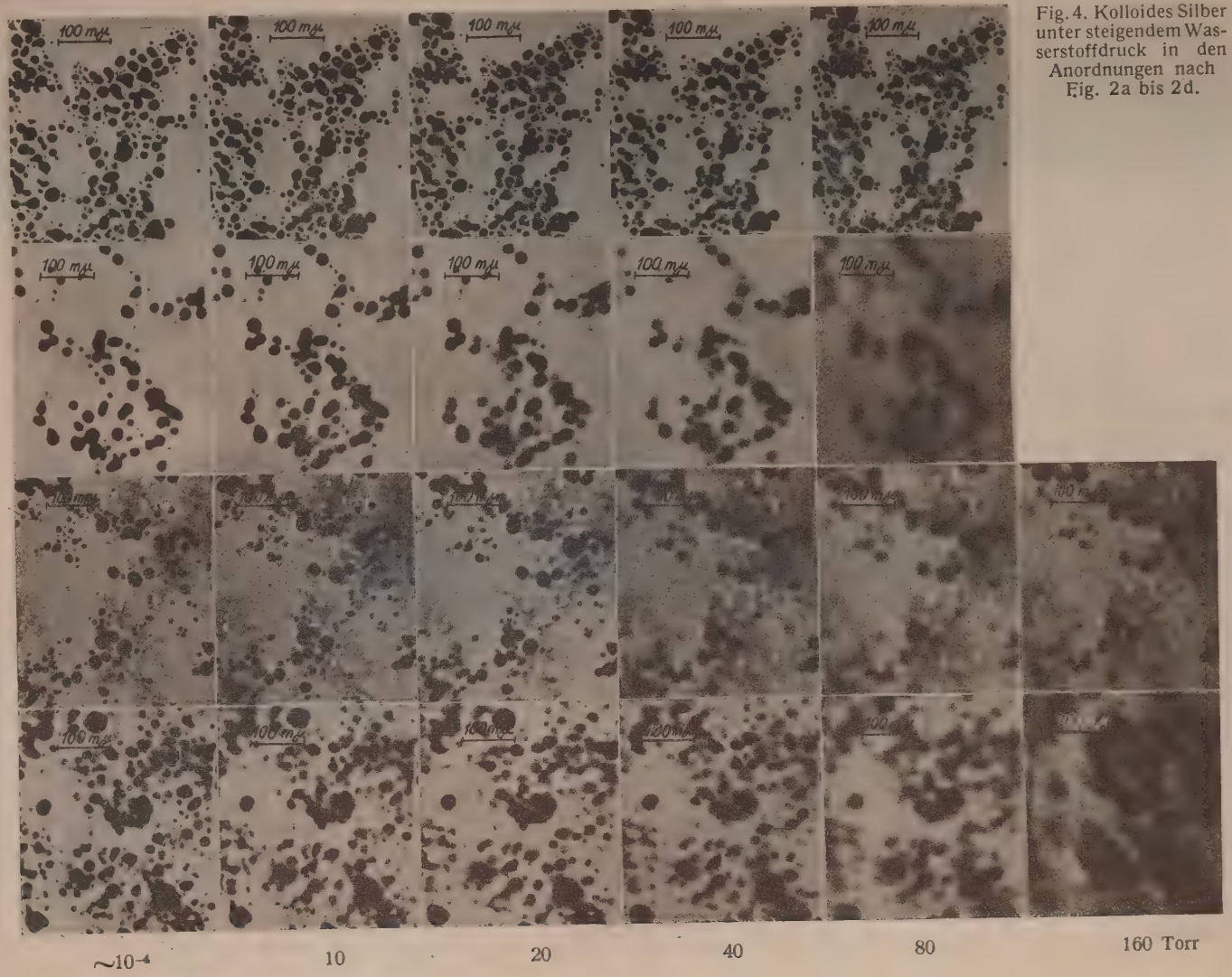


Fig. 4. Kolloides Silber unter steigendem Wasserstoffdruck in den Anordnungen nach Fig. 2a bis 2d.

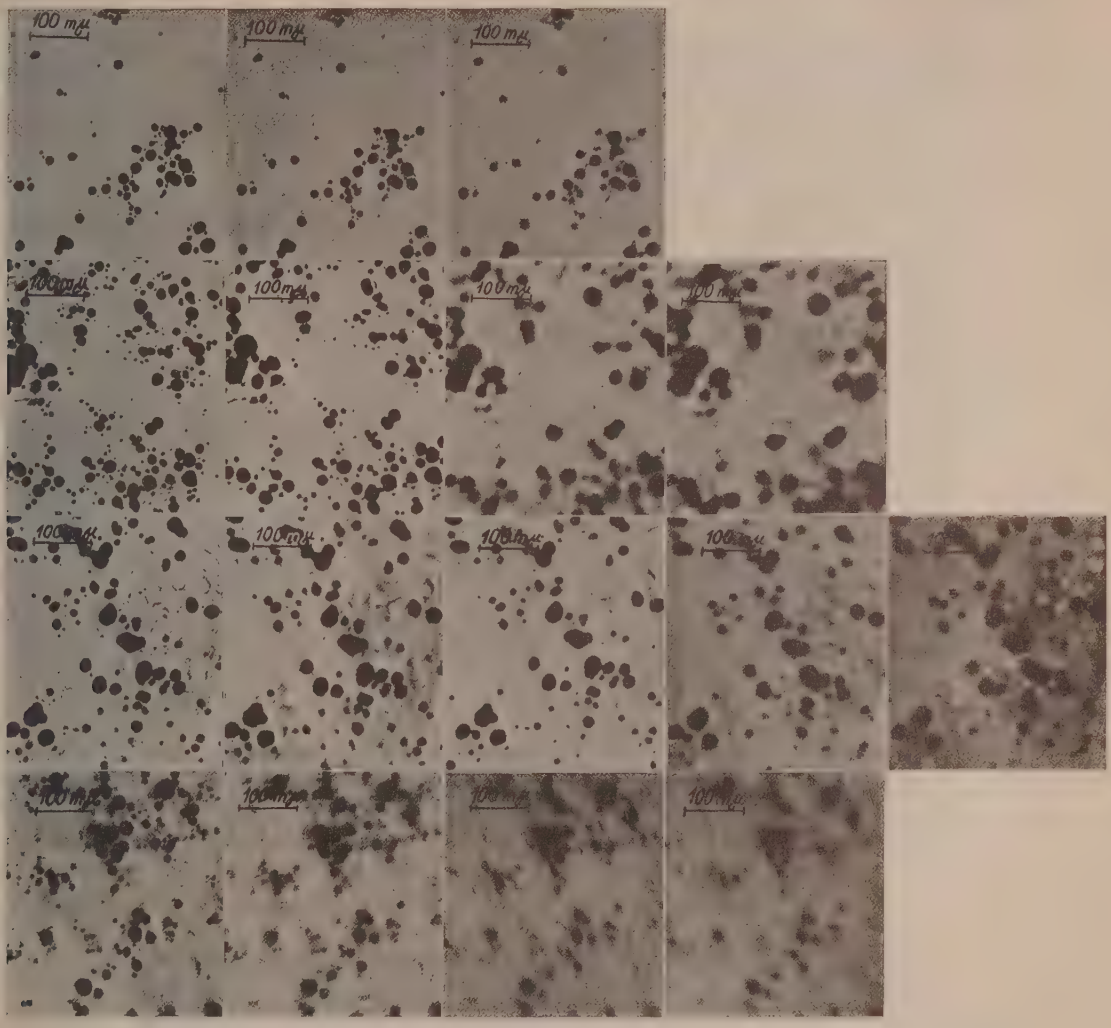
An-
ord-
ung
ach
ig.:

2a

2b

2c

2d



~10^{-4} 5 10 20 40 Torr

Fig. 5. Kolloides Silber unter steigendem Luftdruck in den Anordnungen nach Fig. 2a bis 2d.

Stellen rechteckig begrenzte Kristalle geworden sind. Es hat hier eine chemische Umwandlung des Silbers in Silberchlorid stattgefunden, die wir auch bei vielen anderen Aufnahmen erhalten haben. Diese Veränderung des kolloiden Silbers erfolgte sofort beim Einlassen von Chlor in die Gaskammer und war schon auf dem Leuchtschirm zu beobachten. Um auch nach der chemischen Veränderung der Präparate scharfe Aufnahmen zu erhalten, kann das Gas wieder abgepumpt und die Aufnahmen wiederholt werden.

Bei der Aufnahme und Deutung solcher Reaktionsbilder wie auch anderer übermikroskopischer Bilder sind insbesondere dann, wenn nur wenige Aufnahmen von demselben Objekt vorliegen, Fehldeutungen möglich, da Struktureigentümlichkeiten an Objekten durch optische Fehler der abbildenden Elektronenlinsen und des bestrahlenden Bündels auftreten können. So können z. B. hellere Säume um Objektpartikel durch Öffnungs- und Beugungsfehler auftreten, während ein stärkeres Abweichen von der drehsymmetrischen und glockenförmigen Intensitätsverteilung des bestrahlenden Elektronenbündels zu Doppelbildern und Mehrfachbildern führt, die sich durch Änderung der Linsenbrenn-

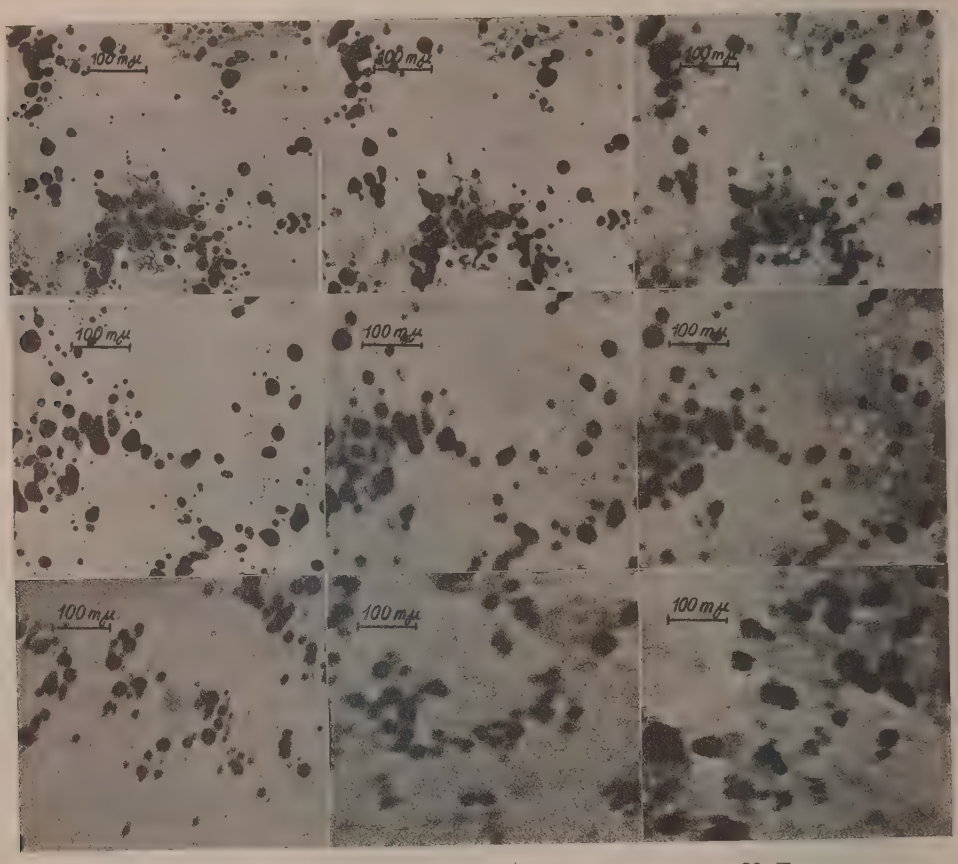


Fig. 6. Kolloides Silber unter Wasserstoff-, Luft- und Chlordruck in der Anordnung nach Fig. 2c.

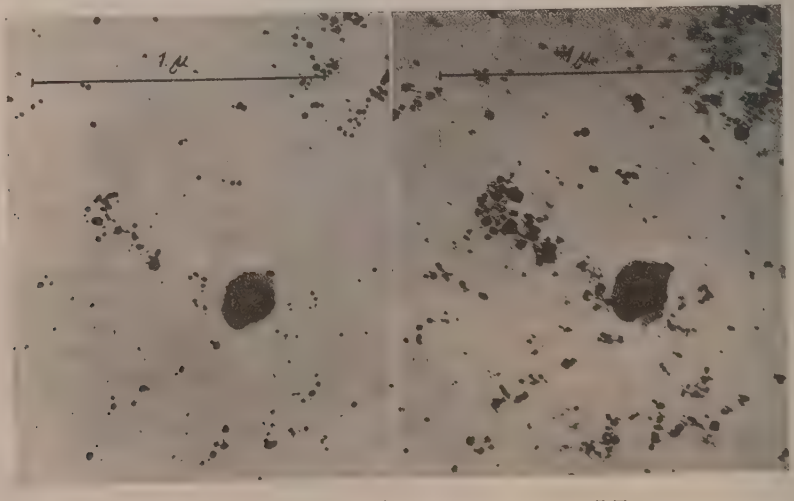


Fig. 7. Umwandlung von kolloidem Silber in Silberchlorid in der Anordnung nach Fig. 2c.

weite zwar mehr oder weniger gut, aber nicht vollständig, zur Deckung bringen lassen. Mehrfachbilder treten leicht beim Arbeiten mit ungeeigneten oder unterheizten Kathoden, insbesondere bei zu hoher Emission auf. Um solchen Täuschungen zu entgehen, hat es sich bewährt, die Objekte bei möglichst hoher elektronenoptischer Vergrößerung zu beobachten und aufzunehmen, weil dann diese Fehler und ihre Veränderung mit der optischen Einstellung schon auf dem Leuchtschirm zu beobachten sind, da die Abmessungen der Säume und Mehrfachkanten bereits über der Körnigkeitsgrenze der Schirme und über dem Auflösungsvermögen des Auges liegt.

Es wurden kürzlich[4]) zwei übermikroskopische Aufnahmen von Zinkoxydkristallen gezeigt, wobei die Kristallnadeln in einem Fall von einem feinen, helleren Saum umgeben waren. Da die Kristalle vor dieser Aufnahme bei Zimmertemperatur 5 min lang einem Kohlensäuredruck von 5 mm ausgesetzt waren, wurden die Säume als eine oberflächliche Umwandlung in Zinkkarbonat gedeutet. Da das Aussehen dieser Kristalle stark an die bekannten, durch Abbildungsfehler bedingten Bildsäume übermikroskopischer Aufnahmen erinnert und auch die angenommene Reaktion unter den angegebenen Umständen wenig wahrscheinlich schien, wurde vom Verfasser geprüft, ob sich eine solche Veränderung der Kristallbegrenzungen durch das Einströmen von CO_2 bei 5 Torr und höheren Drucken vielleicht beobachten ließ. Eine verschiedene Umrandung konnte als Folge der Gaszufuhr weder auf dem Leuchtschirm noch auf der Platte beobachtet werden. Dagegen gelang es, durch verschiedene optische Einstellung ähnliche Bildsäume sowohl vor als auch nach der Behandlung mit Kohlensäure zu erhalten. In einer anderen Arbeit[5]) wird aus einer Aufnahme von Magnesiumoxydrauch auf die oberflächliche Umwandlung in basisches Karbonat geschlossen. Diese Bilder erinnern stark an ungenau fokussierte Doppelbilder. Bei den in Fig. 7 wiedergegebenen, elektronenoptisch relativ hoch vergrößerten Aufnahmen kann es sich nicht um derartige Erscheinungen handeln, da hier aus den runden Teilchen deutlich solche von viereckigem Umriß geworden sind.

Zusammenfassung.

Die übermikroskopische Abbildung von unter Gasdruck stehenden Objekten wird für verschiedene Anordnungen und Gasarten untersucht. Die Verschlechterung von Auflösungsvermögen und Kontrast erweist sich bei leichten Gasen und bei Anordnungen mit kleiner Druckstrecke am geringsten. Eine zusätzliche Objektschädigung durch sekundäre Korpuskeln wird festgestellt. Die beobachtete Umwandlung von kolloidem Silber unter Chlordruck in Silberchlorid zeigt die Brauchbarkeit der Anordnung für Reaktionsbeobachtungen im sublichtmikroskopischen Gebiet.

[4]) M. v. Ardenne, Physik. Z. **43**, 11 (1942).

[5]) M. v. Ardenne und D. Beischer, Z. Elektrochem. **46**, 270 (1940).

Aus dem Forschungs-Institut der AEG.

Über thermisch erzeugte Oxydfilme bei Aluminium.

Von H. Mahl (Berlin-Reinickendorf-Ost). (Eingegangen am 28. Mai 1942)

Einleitung.

Bekanntlich überzieht sich Aluminium an der Luft mit einer sehr dünnen amorphen[1]) Oxydschicht, die das darunterliegende Metall vor weiterer Oxydation schützt. Die Dicke der amorphen Schicht kann nach Hass[2]) bis auf etwa 100 Å anwachsen. Eine verstärkte Oxydation findet erst bei höheren Temperaturen statt [nach Hass[3]) über 400° C], und zwar bildet sich hierbei das kubisch flächenzentrierte γ-Al-Oxyd.

In dieser Arbeit soll dieser Oxydationsvorgang mit Hilfe von Elektroneninterferenzen und im Übermikroskop, das, wie an anderen Stellen gezeigt werden konnte[4]), zum Studium von dünnen Oberflächen-Oxydfilmen vorzüglich geeignet ist, genauer untersucht werden. Da es durch eine Durchstrahlungsabbildung eines abgelösten Oxydfilmes gelingt, gleichzeitig die Eigenstruktur des Oxydfilmes und das Relief der zugehörigen Oberfläche mit abzubilden[5]), lassen sich Zusammenhänge, die zwischen der Lagerung der Oxydkristallite und der Struktur der Oberfläche bestehen, besonders einfach und sicher erkennen.

[1]) Vgl. z. B. G. D. Preston und L. L. Bircumshaw, Philos. Mag. **22**, 654 (1936).

[2]) G. Hass, Ann. d. Phys. **31**, 245 (1938).

[3]) G. Hass, Verh. Dtsch. Phys. Ges. **22**, 1 (1941).

[4]) H. Mahl, Z. techn. Physik **21**, 18 (1940); Korrosion u. Metallschutz **17**, 1 (1941) u. a.

[5]) Der Oxydfilm behält nach dem Ablösen die Form der Oberfläche bei, so daß er einen „Abdruck" des Oberflächenreliefs darstellt. Das Durchstrahlungsbild entspricht darum, wenn der Oxydfilm für sich strukturlos ist, dem übermikroskopischen Bild der Oberfläche [Abdruckverfahren: vgl. H. Mahl, Metallwirtschaft **19**, 488 (1940) und Z. techn. Physik **22**, 33 (1941)]; wenn dagegen der Oberflächenfilm strukturiert ist, erscheint die Struktur des Films dem Bild des Oberflächenreliefs überlagert.

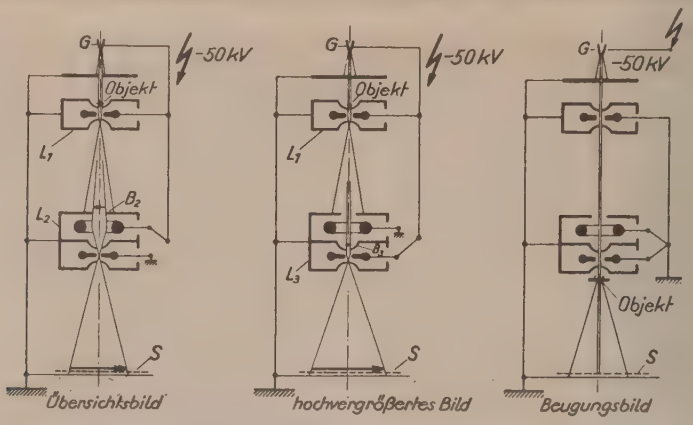


Fig. 1. Schaltungsmöglichkeiten des elektrostatischen Übermikroskops (schematisch).

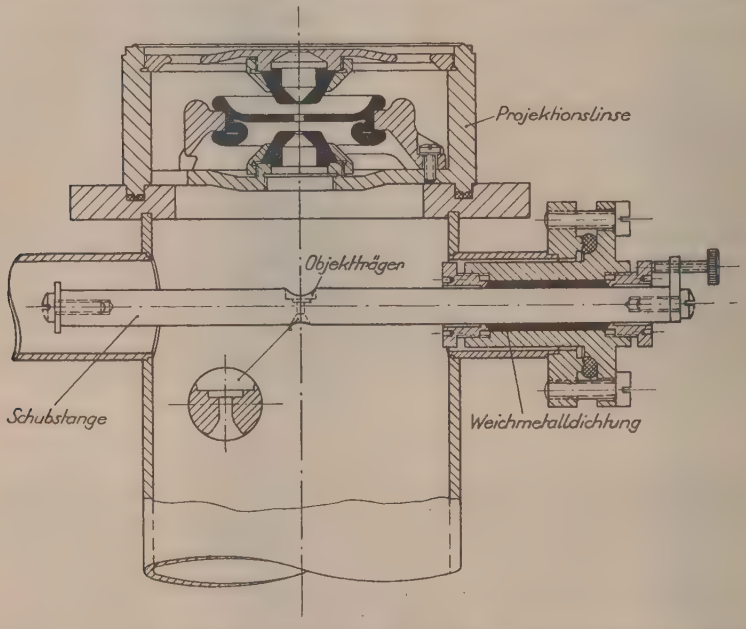


Fig. 2. Schnitt durch die Schleuseneinrichtung für Beugungsaufnahmen mit Projektionslinse.

a b

Fig. 3. Schleuse für Beugungsaufnahmen: a) Einlegen eines Objektträgerplättchens; b) Aufnahmestellung.

Versuchseinrichtung.

Die Untersuchungen wurden mit dem vom Verfasser entwickelten elektrostatischen Übermikroskop durchgeführt, über das in dieser Zeitschrift schon einmal ausführlicher berichtet worden ist[6]). Seit dem Erscheinen dieses Berichtes hat das Gerät einige Verbesserungen erfahren. So ist es unter anderem mit einer Hilfseinrichtung zur Durchführung von Elektronenbeugungsaufnahmen versehen worden, die hier kurz beschrieben sei[7]):

Zunächst ist in Fig. 1 der Strahlenverlauf im Mikroskop wiedergegeben. Durch wahlweises Anlegen der Hochspannung an eine der beiden dicht übereinander angeordneten, verschieden brennweitigen Projektionslinsen läßt sich bei dem jetzt benutzten Gerät eine Vergrößerung von 1000 oder 10000:1 einstellen (Fig. 1 a und 1 b). Wenn beide Projektionslinsen an Hochspannung gelegt werden, so ergibt sich eine Vergrößerung von 3000:1. Zur Durchführung von Elektronenbeugungsaufnahmen wird nach einem Vorschlag von Boersch das Objekt unmittelbar unter den Projektionslinsen in den Strahlengang gebracht. Die Linsen, die hier überflüssig sind, werden geerdet. Die für die Einbringung des Objekts benutzte Einschleusvorrichtung ist in Fig. 2 im Schnitt wiedergegeben. Sie besteht aus einer geschliffenen Metallachse (Schubstange), in der in einer senkrecht zur Stabachse liegenden Bohrung (Schleusenraum) das Objektträgerplättchen gelegt wird. Die gefettete Schubstange wird durch eine Buchse, die zur Dichtung mit Weichmetall ausgekleidet ist, so weit ins Rohrinnere geschoben, bis das Objekt in die Strahlenachse zu liegen kommt. Die Zentrierung der durch eine Gummidichtung angeflanschten Führungsbuchse erfolgt durch drei Verstellschrauben. Die Objekteinführung, die durch die beiden Photos Fig. 3 veranschaulicht ist, dauert nur wenige Sekunden. Es ist so möglich, innerhalb weniger Minuten von einem Objekt sowohl eine übermikroskopische Aufnahme[8]) — das Objekt befindet sich dazu in der Objektschleuse über dem Objektiv — und ein Elektroneninterferenzbild zu erzielen[9]).

Ergebnisse.

Für die im folgenden beschriebenen Untersuchungen wurden hauptsächlich verschiedenartig angeätzte Reinstaluminiumfolien (99,99 Proz. Al) bei 500 bis 600° C an Luft verschieden lange geglüht. Die Ablösung der Oxydfilme erfolgte nach der Quecksilbermethode[10]). Nach einer kurzen Reinigung in verdünnter Salzsäure und Waschen in destilliertem Wasser wurde der isolierte Oxydfilm hierauf mit dem Objektträgerplättchen aufgefischt und nach dem Trocknen ins Übermikroskop zur Untersuchung gebracht.

Orientierung der Oxydkristallite zur Oberfläche. In Fig. 4 ist ein Oxydfilm in 20000facher Vergrößerung wiedergegeben. Es handelt sich hier um einen Oxydfilm, der sich nach vierstündigem Glühen bei 550° C auf Aluminium gebildet hatte, das zur Erzielung einer kristallographisch definierten Oberfläche mit Salzsäure angeätzt worden war. Durch Salzsäure wird bekanntlich das Aluminium so angegriffen, daß im wesentlichen nur Würfelflächen freigelegt werden[11]). Auf dem Bild ist das Würfelrelief der Oberfläche deutlich zu erkennen. Der Oxydfilm selbst besteht aus einzelnen, eng aneinander grenzenden kleinen plättchenförmigen Kriställchen, die die Oberfläche schuppenartig bedecken. Ihre Größen schwanken zwischen mehreren 100 bis etwa 3000 Å. Eine Ausrichtung der Kriställchen auf den Würfelflächen ist nicht zu erkennen. Das Beugungsbild desselben Oxydfilms zeigt Ringe (Fig. 5), die sich dem γ-Al-Oxyd zuordnen lassen. Starke Intensitätsunsymmetrien in den Ringen, die beim Neigen des Objekts variieren, weisen auf eine ausgeprägte Faserstruktur des Oxydfilms hin. Dies ist auf Grund der übermikroskopischen Aufnahme (Fig. 4) so zu verstehen, daß die Ebene der größten Ausdehnung der Oxydkristallite (Plättchenebene) mit einer bestimmten Kristallebene zu identifizieren ist[12]), die annähernd parallel zur Oberfläche liegt.

Im Einklang mit dieser Deutung steht das Beugungsbild (Fig. 7), das von einem Oxydfilm

---

[6]) H. Mahl, Kolloid-Z. **91**, 105 (1940).

[7]) Diese Einrichtung ist bereits an anderen Stellen erwähnt. Vgl. H. Mahl, Chem. Fabrik **14**, 279 (1941) und Naturwiss. **30**, 207 (1942).

[8]) Die übermikroskopischen Bilder dieser Arbeit sind meistens in zweifacher Nachvergrößerung wiedergegeben. Ebenso sind die Elektronenbeugungsbilder vergrößert dargestellt.

[9]) Bei der von E. Ruska (Wissenschaftl. Veröff. **a. d. Siemens-Werken 1940**, 372) angegebenen Anordnung bleibt für beide Untersuchungsarten die Objektlage unverändert. Zur Erreichung eines ungestörten Strahlenganges müssen bei der Durchführung der Beugungsaufnahmen beim magnetischen Übermikroskop die Polschuhe der Projektionslinse herausgenommen werden.

[10]) Vgl. in U. R. Evans, Korrosion und Oberflächenschutz von Metallen (Berlin 1939), 55.

[11]) Vgl. z. B. J. Weerts, Z. techn. Physik **9**, 126 (1928) und H. Mahl und I. N. Stranski, Z. physik. Chem., Abt. B **51**, 319 (1942).

[12]) Nach Untersuchungen von F. Kirchner [Z. Physik **76**, 516 (1932)] liegen bei dünnen kristallinen Aufdampfschichten ganz ähnliche Verhältnisse vor.

Fig. 4. Oxydfilm von geätztem Reinstaluminium (Salzsäureätzung), durch vierstündiges Glühen bei 550° C erzeugt. (Die Würfelflächen des Aluminiums liegen zur Oberflächenebene verkantet.) Vergrößerung: 20000 : 1.

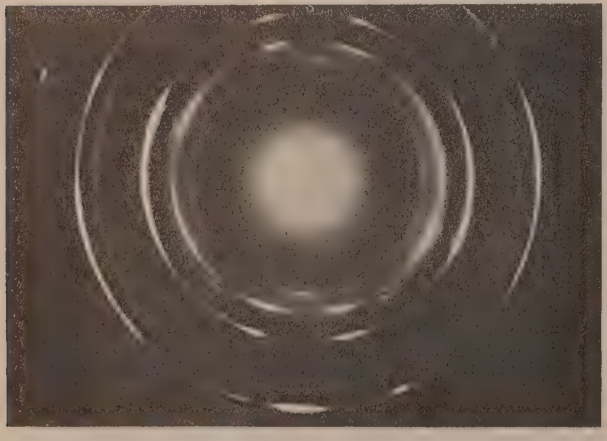


Fig. 5. Beugungsaufnahme des Objekts von Fig. 4.

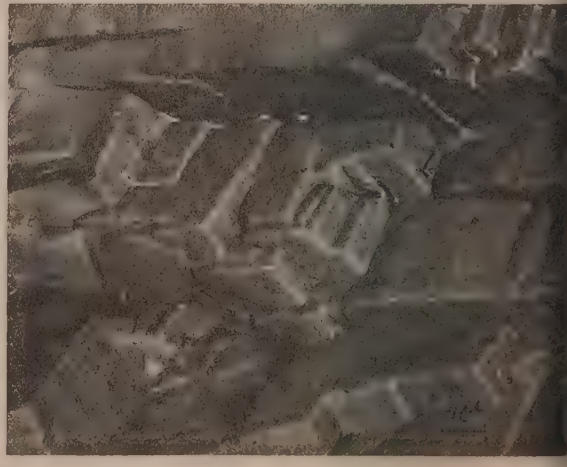


Fig. 12.
Oberflächenrelief bei Ätzung des Reinstaluminiums mit reiner verdünnter Salzsäure. (Abdruckfilm: strukturloser, elektrolytisch erzeugter Oxydfilm.) Vergrößerung: 6000 : 1.

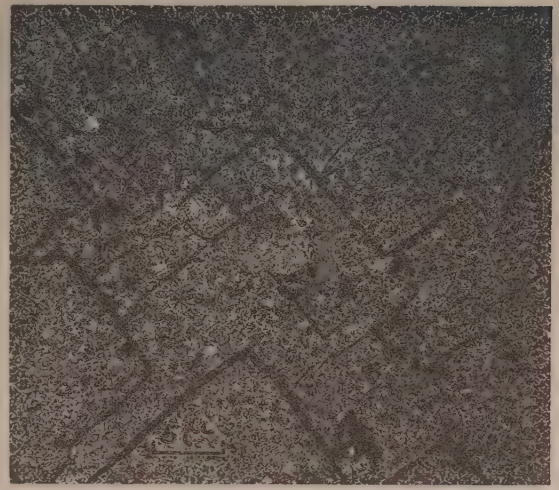


Fig. 6. Oxydfilm von geätztem Reinstaluminium (Salzsäureätzung), durch 50 Minuten Glühen bei 550° C erzeugt. (Die Würfelflächen liegen parallel zur Oberflächenebene.) Vergrößerung: 2000 : 1.

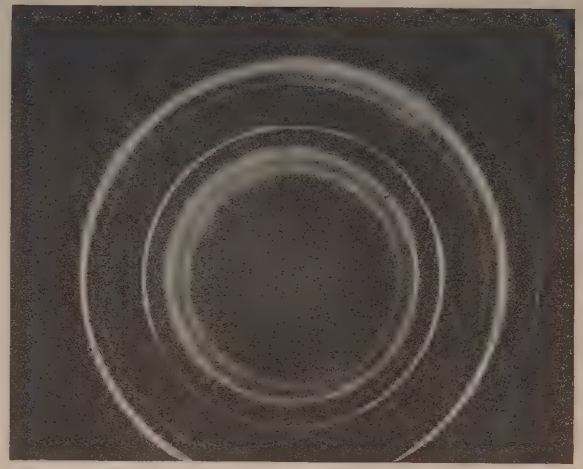


Fig. 7.
Beugungsaufnahme des Oxydfilms von Fig. 6.

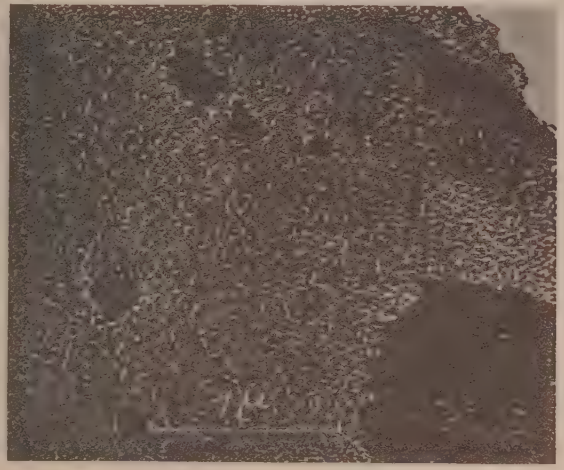


Fig. 8. Oxydfilm von Blattaluminium, erzeugt durch Bestreichen mit einer Bunsenflamme. Vergrößerung: 27000 : 1.

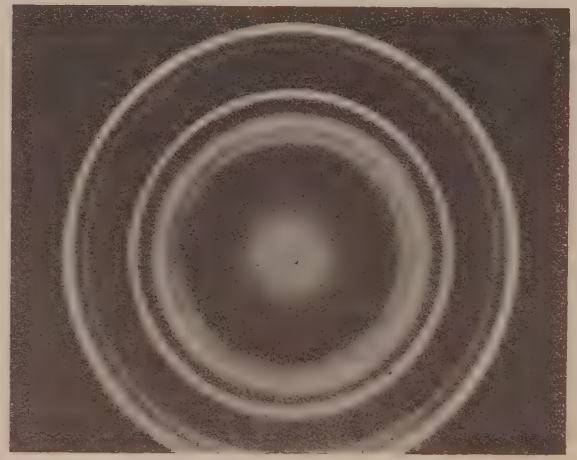


Fig. 9.
Beugungsaufnahme des Oxydfilms von Fig. 8.

stammt, der im Gegensatz zum vorher betrachteten Beispiel im wesentlichen nur durch eine einzige, zur Strahlrichtung senkrechten ebenen Fläche definiert ist. [Die dazu senkrechten Flächen spielen im Vergleich zu diesen Kristallflächen flächenmäßig nur eine untergeordnete Rolle.] Die Würfelfläche des geätzten Aluminiums liegt, wie besonders die elektronenmikroskopische Übersichtsaufnahme des Objekts (Fig. 6) zeigt, parallel zur Oberflächenebene. Da in diesem Fall die Reflexbildung hauptsächlich nur von nicht orientierten Kristallebenen der ungeordnet liegenden Oxydplättchen erfolgt — die parallel zur Oberfläche orientierte Ebene kann ja nicht zur Reflexbildung beitragen —, ergeben sich praktisch gleichmäßig geschwärzte Ringe. Die Faserstruktur ist aber andererseits doch daran zu erkennen, daß der innerste Ring (111-Reflex), der im vorigen Beispiel deutlich hervortrat, kaum angedeutet ist. Daraus geht hervor, daß die Oxydplättchen so zur Oberfläche gelagert sind, daß ihre Oktaederebene nicht in der dazu senkrechten Reflexionsrichtung (Strahlrichtung) liegt[13]).

Bei einem Oxydfilm, der durch Oxydation von Blattaluminium in einer Bunsenflamme erhalten wurde[14]), ist die Parallelorientierung der Kristallite wesentlich weniger ausgeprägt. Der vorher fehlende 111-Ring ist im Beugungsbild deutlich zu erkennen (Fig. 9), außerdem treten beim Neigen des Objekts nur geringe Intensitätsunsymmetrien auf. Eine Erklärung für dieses Verhalten gibt das übermikroskopische Bild (Fig. 8): Die Oxydkristallite sind hier sehr klein (Größenordnung 100 Å). Von einer Plättchenform ist hier nichts mehr zu erkennen. Die Voraussetzungen für eine völlige regellose Verteilung der Oxydkristallite sind hier demnach wesentlich günstiger als bei dem vorher betrachteten schuppigen Oxydfilm.

Orientierung zur Kristallstruktur des Aluminiums. Nachdem wir sichergestellt haben, daß bei dem durch Glühen bei 500 bis 600° C gebildeten γ-Al-Oxyd eine bestimmte Ebene (die nach der Plättchenform der Oxydkristallite mit der Ebene des größten Kristallwachstums zu identifizieren ist) annähernd parallel zur Aluminiumoberfläche gelagert ist, wenden wir uns der Frage zu, inwieweit eine auf die Kristallstruktur des Aluminiums bezogene Orientierung (Richtungsorientierung) der Oxydkristallite vorhanden ist. Eines zeigten bereits die letzten Bilder (z. B. Fig. 4): Auf den Würfelebenen des Aluminiums ist anscheinend keine Richtungsorientierung der Oxydkristallite zu erkennen, wenigstens dann nicht, wenn die Oberfläche nach längerem Glühen völlig mit Oxydkristalliten bedeckt ist. Das Bild ändert sich sofort, wenn wir auch andere Kristallflächen des Aluminiums als Oxydunterlage zulassen.

Sicherlich ließen sich die Verhältnisse am besten übersehen, wenn wir eine Al-Einkristallkugel oberflächlich oxydieren würden. Da eine Verwirklichung derartiger Versuchsbedingungen aber relativ schwierig ist — die Kugel müßte für unsere Untersuchungen eine sublichtmikroskopisch glatte Oberfläche haben —, wurde ein anderer Weg beschritten, der ähnliche Voraussetzungen schafft. Eine einfache Möglichkeit bietet sich durch Anätzen der Aluminiumfolie mit Natron- oder Kalilauge. Wie an anderer Stelle gezeigt werden konnte[15]), bilden sich hierbei auf der Al-Oberfläche mehr oder weniger flache schalenförmige Grübchen. In den verschiedenen Bereichen eines Grübchens liegen darum verschiedene Kristallflächen an der Oberfläche. Wenn die Lage der Kristallite durch eine bestimmte Kristallebene beeinflußt wird, dann müßte ein Oxydfilm, der von einer solchen Oberfläche stammt, in bestimmten Bereichen eine einheitliche Ausrichtung der Kristallite erkennen lassen. Daß dies wirklich zutrifft, zeigt Fig. 10 an einem Oxydfilm, der durch vierstündiges Glühen bei 550° C auf einer mit Natronlauge angeätzten Al-Folie erzeugt wurde. Wir sehen auf dem Bild, das den Oxydfilm von einem Teil der Ätzgrube wiedergibt[16]), deutlich Bereiche, auf denen langgestreckte Kristallite streng orientiert liegen, auf anderen Bereichen sind dagegen die Kristallite ungeordnet. Besonders deutlich ist diese Richtungsorientierung am Beugungsbild des gleichen Präparates zu erkennen (Fig. 11). Den Ringen, die die Reflexe der ungeordneten Kristallite darstellen, ist ein gut ausgebildetes Einkristall-Punktdiagramm überlagert. Da die Punkte auf den Ringen liegen, stammen sie ebenfalls vom γ-Al-Oxyd. Sie sind offensichtlich die Reflexe der Gruppen orientierter Kristallite.

[13]) Zur Bestimmung der parallelorientierten Ebene selbst reicht diese Feststellung allein noch nicht aus. Der 111-Reflex muß nämlich sowohl bei Oxydplättchen, deren Oktaederebene oder deren Würfelebene parallel zur Unterlage orientiert ist, fehlen. Zur Festlegung der Ebene müßten darum erst die Intensitätsunsymmetrien, die bei bestimmten Neigungen des Oxydfilms auftreten, analysiert werden.

[14]) Vgl. hierzu A. Steinheil, Ann. d. Phys. **19**, 465 (1934).

[15]) H. Mahl, Metallwirtschaft **19**, 488 (1940).

[16]) Das Bild gibt etwa ein Viertel einer Ätzgrube wieder, wobei der Mittelpunkt der Grube in der linken oberen Ecke liegt.

Fig. 10. Oxydfilm von geätztem Reinstaluminium (Natronlaugenätzung), erzeugt durch vierstündiges Glühen bei 550° C. Vergrößerung: 20000 : 1.

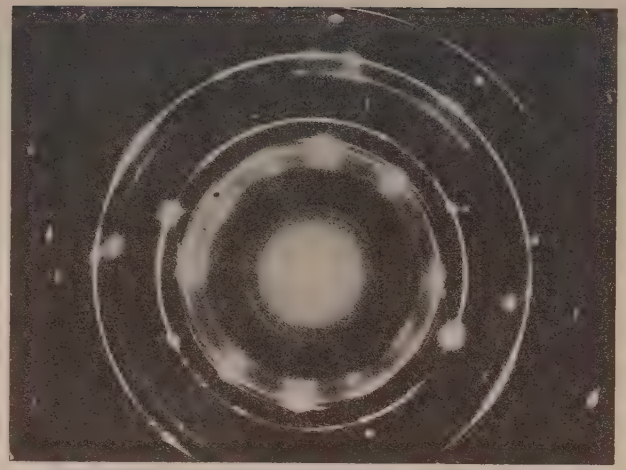


Fig. 11.
Beugungsbild des Oxydfilms von Fig. 10.

Fig. 13. Oberflächenrelief von Reinstaluminium nach Ätzung mit kupferhaltiger Salzsäure. (Abdruckfilm: strukturloser, elektrolytisch erzeugter Oxydfilm.) Vergrößerung: 6000 : 1.

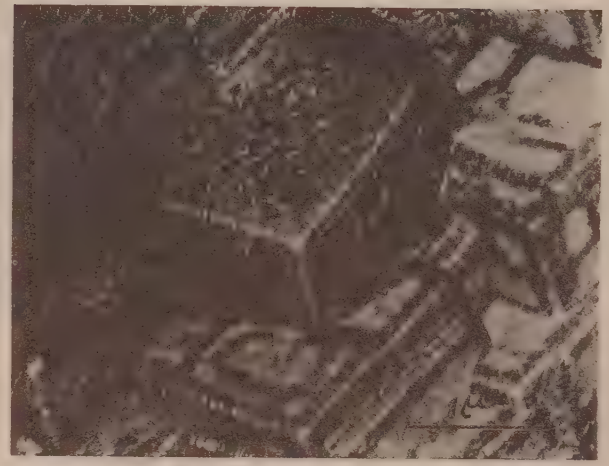


Fig. 14. Oxydfilm von geätztem Reinstaluminium (Kupferätzung entsprechend Fig. 13), durch dreistündiges Glühen bei 570° C erzeugt. Vergrößerung: 20000 : 1.

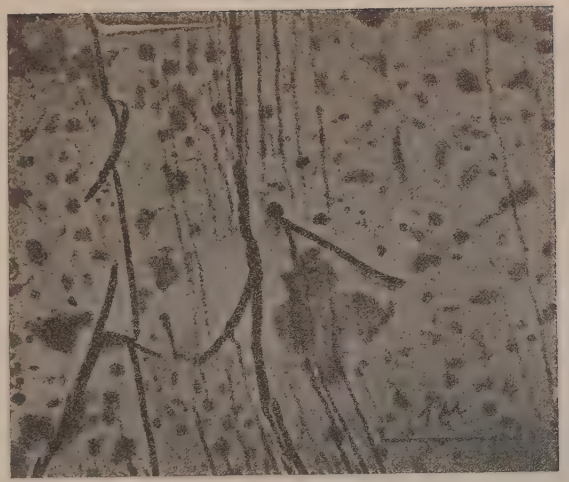


Fig. 15. Oxydfilm von Reinstaluminium, durch 20 Minuten Glühen bei 490° C erzeugt. Vergrößerung: 20000 : 1.

Fig. 16.
Beugungsbild des Oxydfilms von Fig. 15.

Fig. 17. Oxydfilm von Reinstaluminium, durch 10 Minuten Glühen bei 550° C erzeugt. Vergrößerung: 20000 : 1.

Fig. 18.
Beugungsbild des Oxydfilms von Fig. 17.

Außer dieser qualitativen Feststellung einer zum Al-Gitter bestehenden Orientierung der Oxydkristallite läßt sich durch eine andere Ätzung auch noch die Kristallebene des Al-Gitters auffinden, auf der die Oxydkristallite geordnet liegen.

Durch Kupferzusatz zur Salzsäure (Kupferätzung) läßt sich nämlich besonders bei Reinstaluminium eine relativ starke Abrundung der Kanten und Ecken der Ätzwürfel erzielen. Zur besseren Veranschaulichung des hierbei gewonnenen Oberflächentyps ist in Fig. 13 ein mit einem strukturlosen Abdruckfilm erzeugtes Oberflächenbild von einer derartigen Oberfläche wiedergegeben. Beim Vergleich mit Fig. 12 (S. 222), die den Oberflächentyp bei reiner Salzsäureätzung (entsprechend Fig. 4) zeigt, springt die bei der Kupferätzung sehr viel stärkere Verrundung der Ecken und Kanten sofort ins Auge. Ein thermisch erzeugter Oxydfilm von einer derartig (entsprechend Fig. 13) angeätzten Al-Oberfläche ist in Fig. 14 wiedergegeben. Die Aufnahme zeigt deutlich, daß am Oktaederpol, der auf der abgerundeten Ecke liegt, ein einziges relativ großes Oxydplättchen liegt, während auf den abgerundeten Kanten, die die 110-Ebene als tangierende Fläche hat, die Kristallite raupenartig angeordnet sind[17]. Auf den Würfelflächen liegen dagegen die Kristallite, wie in dem vorher beschriebenen Beispiel, ungeordnet. Aus diesem Versuch folgt demnach, daß die durch thermische Oxydation erzeugten γ-Al-Oxyd-Kristallite auf der Oktaederfläche des Aluminiums orientiert aufwachsen. Das raupenartige Aussehen des Oxydfilms auf der abgerundeten Kante kommt dabei vermutlich durch einen sägezahnartigen Angriff des Aluminiums durch den Sauerstoff mit Oktaederflächenbegrenzung zustande.

Nachdem wir bis jetzt Oxydfilme untersucht haben, die sich nach längerem Glühen gebildet hatten, sei zum Schluß noch das Wachstum der Oxydfilme bei allmählicher Steigerung der Glühdauer studiert.

Wachstum des Oxydfilms. Glühen wir zunächst die Al-Folie, die wir zur Erzielung einer kristallographisch definierten Oberfläche wieder mit Salzsäure geätzt haben — bei etwa 500° C — so erhalten wir bei kurzer Glühdauer zunächst außerordentlich dünne strukturlose[18] Oxydfilme (Fig. 15). Das Elektronenbeugungsbild (Fig. 16) zeigt einen Schwärzungshof und zwei schwache diffuse Ringe[19]. Wir haben also vermutlich äußerst feinkristallines Al-Oxyd vor uns.

Oxydfilme, die von etwas länger geglühtem oder von kurzzeitig bei höheren Temperaturen (z. B. 10 Min. bei 550° C) geglühtem Aluminium stammen, zeigen im Elektronenbeugungsbild (Fig. 18) einige schwache scharfe Ringe, die darauf hinweisen, daß in der äußerst feinkristallinen Schicht jetzt auch größere Oxydkristallite eingestreut sind. Das Elektronenbild (Fig. 17) läßt diese Kristallbildung unmittelbar erkennen. Es zeigt zwei Arten von Kristalliten, und zwar sehr feine Körner von unbestimmbarer Form und wesentlich größere plättchenartige Kristallite mit deutlich erkennbarer Begrenzung. Vermutlich bildeten sich zuerst, nachdem die erste äußerst feinkristalline Oxydschicht — vielleicht durch teilweises Auskristallisieren — durch Poren- und Rißbildung durchlässig für Sauerstoff geworden ist, die kleinen Kristallitkörner. Die größeren unorientierten Kristallplättchen, die nach längerem Glühen schließlich die ganze Oberfläche überziehen (vgl. z. B. Fig. 4), dürften dagegen durch weitere Sammelkristallisation der feinen Körner entstanden sein. Es ist aber auch denkbar, daß sich auf bestimmten Al-Kristallflächen [auf denen die Bindungskräfte der Gitterbausteine am geringsten sind[20]], schon primär größere Oxydkristallite bilden können. Die im vorigen Abschnitt festgestellte Richtungsorientierung der Oxydkristallite auf dem Oktaederpol und der 110-Ebene spricht für diese Möglichkeit, wenn auch eine nachträgliche Ausrichtung der Kristallite auf dieser Ebene nicht mit Sicherheit auszuschließen ist.

Zusammenfassung.

Es werden Oxydfilme, die sich auf Reinstaluminium beim Glühen über 500° C bilden, mit Hilfe von Elektroneninterferenzen und übermikroskopisch untersucht. Dabei wird gefunden, daß

[17]) Durch die raupenförmig angeordneten Kristallite erscheint das Oberflächenrelief scharfkantiger, als es in Wirklichkeit ist. Die starke Abrundung der Kanten entsprechend der Fig. 13 ist aber deutlich an den Stoßkanten zu sehen, an denen sich die Kanten der einzelnen Ätzwürfel mit den angrenzenden Flächen anderer Ätzwürfel berühren.

[18]) Die auf dem Oxydfilm erkennbaren verschwommenen dunklen Flecke sind vermutlich als Eintrocknungsreste zu deuten.

[19]) Die diffusen Ringe sind auf der Reproduktion nicht zu erkennen.

[20]) Entsprechend der Kossel-Stranski'schen Kristallwachstumstheorie kommen als Begrenzungsflächen (Reaktionsflächen) für konkave Auflösungsformen beim kubisch flächenzentrierten Metall in erster Linie die 111-Ebene und dann erst die 100-Ebene in Betracht. [Vgl. z. B. I. N. Stranski und R. Kaischew, Z. physik. Chem., Abt. B 26, 312 (1934).]

diese Oxydfilme aus schuppenartigen Kristalliten (γ-Al-Oxyd) bestehen, die mit einer bestimmten Kristallebene, der Ebene des größten Kristallwachstums, annähernd parallel zur Oberfläche liegen (Faserstruktur). Oxydfilme, die von Blattaluminium durch Bestreichen mit einer Bunsenflamme erzeugt werden, sind dagegen sehr feinkörnig und zeigen keine ausgeprägte Faserstruktur.

Durch Anwendung des Abdruckverfahrens (Oxydfilm = Abdruckfilm) gelingt es, Zusammenhänge, die zwischen der Lagerung der Oxydkristallite und der Kristallstruktur des Aluminiums bestehen, das zur Erzeugung einer kristallographisch definierten Oberfläche geätzt ist, aufzufinden: Auf bestimmten Kristallflächen (111- und 110-Ebene) wachsen die Oxydkristallite orientiert auf, was sich auch im Beugungsbild in einem ausgeprägten Einkristall-Punktdiagramm ausdrückt.

Für die Entstehung der nach längerem Glühen fast ausschließlich vorhandenen Kristallplättchen wird aus den Abbildungsversuchen geschlossen, daß diese im allgemeinen durch Sammelkristallisation von primär sich bildenden, sehr feinen Oxydkörnchen entstehen, die sich wiederum erst dann bilden, nachdem die erste äußerst feinkristalline Oxydschicht durch teilweises Auskristallisieren für den Sauerstoff durchlässig geworden ist. Unter günstigen Wachstumsbedingungen, z. B. auf der Oktaederebene des Aluminiums, erfolgt vermutlich die Bildung von größeren orientierten Oxydkristalliten unmittelbar.

Aus dem Theoretisch-physikalischen Institut der Technischen Hochschule Danzig.

Herstellung temperaturbeständiger Trägerfolien für die Bestimmung von Gitterkonstanten metallischer Mehrstoffsysteme mittels Elektroneninterferenzen.

Von Alfred Boettcher (Danzig-Langfuhr).

(Eingegangen am 13. Juni 1942)

Durch Haß und Kehler[1]) wurden eingehende Untersuchungen veröffentlicht über die Eigenschaften elektrolytisch erzeugter und getemperter Aluminiumoxydschichten. Insbesondere wurde auf ihre Verwendbarkeit als Trägerfolien bei übermikroskopischen Untersuchungen und Strukturforschung mittels Elektroneninterferenzen hingewiesen. Der besondere Vorzug dieser von ihnen hergestellten Oxydhäutchen war ihre Hitzebeständigkeit und ihre bis zu Temperaturen von 600° C weitgehend amorphe Struktur. Erst bei Erwärmung auf 650° C traten in den Beugungsbildern die ersten scharfen Interferenzringe von γ-Al_2O_3 auf, die dann bei 700° C vollständig ausgebildet waren.

Im Zusammenhang mit besonderen Untersuchungen, die zur Zeit bei uns im Gange sind, tauchte das Bedürfnis nach einer temperaturbeständigen Trägerfolie auf, die jedoch nicht amorph wie die von Haß und Kehler beschriebenen Folien ist, sondern durch ein ihr eigenes, möglichst linienarmes Beugungsbild zu dem Interferenzbild des auf ihr aufgebrachten Untersuchungsmaterials jeweils einen Vergleichsmaßstab gibt. An die Stelle der Vergleichssubstanz bei der von Riedmiller[2]) angegebenen Doppelblendenmethode tritt hier die Trägerfolie unter Vermeidung einer Doppelblendenanordnung.

Als geeignetes Ausgangsmaterial erwies sich Aluminium, das im Hochvakuum auf frische Steinsalzspaltflächen, die auf etwa 450° C erwärmt waren, in einer Dicke von 250 bis 300 ÅE aufgedampft wurde. Wie Brück[3]) gezeigt hat, sind die so hergestellten Schichten fast vollständig orientiert, und zwar liegen die (111)-Ebenen des Aluminiumgitters parallel zu den NaCl-Würfelflächen, so daß bei senkrechter Durchstrahlung der (220)-Reflex besonders stark hervortritt. Er ist seinerseits in 12 symmetrisch liegende Punkte aufgespalten, da eine Orientierung der (111)-Ebenen nach den beiden Flächendiagonalen der Würfelflächen des NaCl-Gitters erfolgt. Die so erhaltenen Filme wurden bei 600° C an Luft getempert. Das dabei entstehende Oxyd zeigt dieselbe Orientierung wie das Aluminium, besonders stark tritt der (440)-Reflex hervor. Fig. 1 zeigt das Beugungsbild einer Schicht, die drei Stunden getempert wurde. Die Reflexe des Aluminiumgitters und des Oxyds sind nebeneinander vorhanden. Dicht außerhalb des (220)-Ringes von Al liegt der (440)-Ring des Oxyds. Man erkennt die völlig äquivalente Orientierung, aus der Körnigkeit der zwischen den starken Maxima

[1]) Haß und Kehler, Kolloid-Z. **97**, 27 (1941).

[2]) Riedmiller, Z. Physik **102**, 408 (1936).

[3]) Brück, Ann. d. Phys. **26**, 233 (1936).

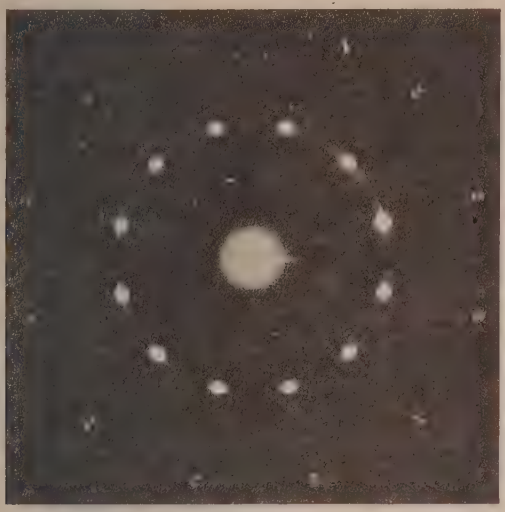


Fig. 1

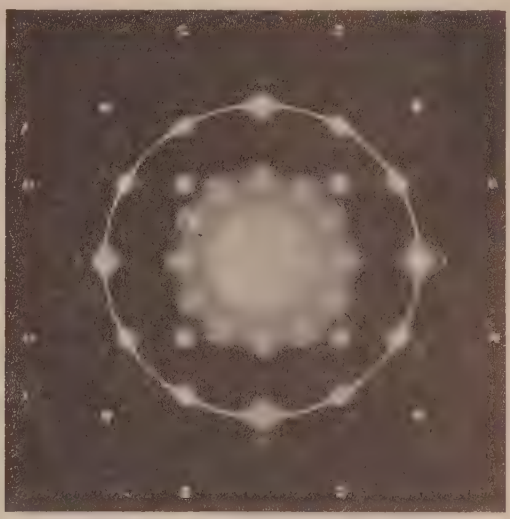


Fig. 2

noch vorhandenen Teilen des (220)- bzw. (440)-Ringes ist zu ersehen, daß die Kristallite des entstandenen Oxyds wesentlich kleiner sind als die des Aluminiums. Nach 20-stündigem Tempern bei 600° C ist das Aluminium fast völlig durchoxydiert, man erkennt nur noch ganz schwach die Reste der Maxima des (220)-Reflexes von Aluminium (Fig. 2).

Andererseits konnten wir feststellen, daß bei ausreichender Belichtung auch auf den Beugungsbildern der vom Steinsalz abgelösten ungetemperten Aluminiumschichten stets die Maxima des (440)-Oxydreflexes angedeutet waren. Die auf dem orientierten Aluminium aufgewachsene natürliche Oxydschicht ist also ebenfalls bereits orientiert. Ein Einfluß der Temperatur, bei der das Aluminium getempert wurde, auf die Struktur der entstehenden Oxydschicht konnte bis zu 900° C nicht gefunden werden.

Das Gitter des so hergestellten Aluminiumoxyds ist kubisch flächenzentriert und entspricht dem des γ-Al_2O_3. Seine Gitterkonstante wurde durch Vergleich mit Al ($a = 4{,}041$ ÅE) und Ag ($a = 4{,}078$ ÅE) bestimmt, die auf die Oxydfolie aufgedampft wurden. Wir fanden, in guter Übereinstimmung mit den röntgenographischen Messungen an γ-Al_2O_3

$$a = 7{,}89 \pm 0{,}01 \text{ ÅE}.$$

Dieselben Aluminiumschichten wurden auch auf elektrolytischem Wege im Bad einer organischen Säure, wie sie zur Herstellung von Ventilschichten verwandt wird, oxydiert. Die dabei entstehenden Oxydschichten zeigten dasselbe Beugungsbild wie die von Haß und Kehler auf nicht orientierten Aluminiumschichten hergestellten, nur an einzelnen Stellen des Präparates trat der (440)-Reflex eines Oxydes mit der von uns gemessenen Gitterkonstanten schwach auf. Es ist anzunehmen, daß es sich um unzerstörte Reste der natürlichen Oxydhaut handelte, die sich auf dem Beugungsbild abzeichneten.

Bei der Verwendung der getemperten Oxydhäutchen als Trägerfolien für Strukturuntersuchungen wurde die Temperatur der Steinsalzunterlage, auf die die Aluminiumschicht aufgedampft wurde, so gewählt, daß noch keine völlige Orientierung nach den Würfeldiagonalen des Steinsalzgitters erfolgte. Entsprechend tritt dann im Beugungsbild des Oxydfilms noch der gesamte (440)-Ring auf, der zur genauen Bestimmung des Ringdurchmessers geeigneter ist als die reinen Punktinterferenzen. Außerdem wurde von uns eine Anordnung benutzt, bei der der Elektronenstrahl zur Flächennormalen der Trägerfolie geneigt ist. Dies hat zur Folge, daß von den bei senkrechter Durchstrahlung auftretenden Ringen nur Segmente auf dem Beugungsbild erscheinen, so daß auf bestimmten Radien nur die Reflexe des zu untersuchenden Materials auftreten, was für die Auswertung in manchen Fällen vorteilhaft ist.

Anwendungsbeispiel.

Als Beispiel für die Verwendungsmöglichkeit der orientierten Oxydhäutchen geben wir die Bestimmung der Gitterkonstanten von Mischkristallen des Systems AgAl, Durch Aufdampfen der

beiden Metalle auf denselben Träger und geeignete thermische Behandlung im Hochvakuum war es möglich, die α-, β'-, γ- und δ-Phase des angegebenen Systems herzustellen und im Beugungsbild nachzuweisen. Durch die Auswertung der Aufnahmen unter Anschluß an die stets vorhandenen Oxydringe konnte ohne Spannungsmessung eine Genauigkeit des Wertes der Gitterkonstanten der hauptsächlich interessierenden α- und δ-Phase von annähernd 0,1 Proz. erreicht werden.

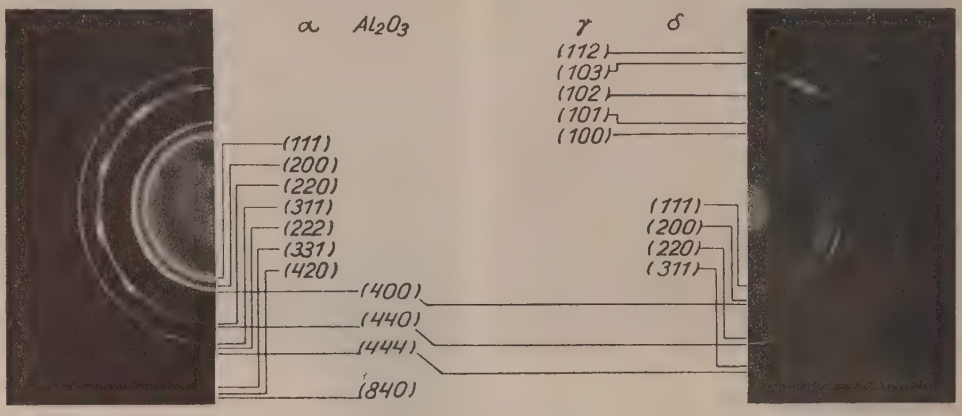


Fig. 3 Fig. 4

Fig. 3 zeigt das Beugungsbild eines α-Mischkristalles des Systems AgAl mit einer Gitterkonstanten von $a = 4{,}067 \pm 0{,}005$ ÅE, Fig. 4 das eines Gemisches von γ- und δ-Kristallen desselben Systems. Der γ-Kristall entspricht einer hexagonal dichtesten Kugelpackung, der δ-Kristall ist kub. flz. mit $a = 4{,}057 \pm 0{,}005$ ÅE. Wir konnten feststellen, daß, im Gegensatz zu den Ergebnissen der an technischen Legierungen gemachten Untersuchungen, Aluminium bei den auf diesem Wege hergestellten Legierungen bei Zimmertemperatur für Silber eine wesentlich größere Löslichkeit als 0,5 Proz. hat. Die Aufnahmen der β'-Phase wurden nicht ausgewertet.

Eine ausführliche Mitteilung über die Kinetik der Legierungsbildung im Hochvakuum aufgedampfter metallischer Mehrstoffsysteme, ihre optischen Eigenschaften und elektrische Leitfähigkeit, ist vorgesehen.

Zusammenfassung.

Auf erwärmter Steinsalzunterlage aufgedampfte Aluminiumschichten wurden an Luft getempert und die Struktur und Orientierung der entstandenen Aluminiumoxydfilme mittels Elektroneninterferenzen untersucht. Das bei Tempern zwischen 600° und 900° C entstandene Oxyd wurde als γ-Al_2O_3 bestimmt mit einer Gitterkonstante von $a = 7{,}89 \pm 0{,}01$ ÅE.

Die völlig durchoxydierten Folien wurden als Trägerfilme für aufgedampfte metallische Mehrstoffsysteme benutzt, deren Gitterkonstanten durch Anschluß an die auf den Beugungsbildern stets mitauftretenden Reflexe des Oxyds ohne Spannungsmessung mit einer Genauigkeit von 0,15 Proz. bestimmt werden konnten. Als Beispiel werden verschiedene Phasen des Systems AlAg angegeben.

Aus dem Physikalischen Institut der Technischen Hochschule, Danzig-Langfuhr, und dem Laboratorium für Elektronenoptik der Siemens & Halske A. G., Berlin.

Untersuchungen über den Aufbau aufgedampfter Metallschichten mittels Übermikroskop und Elektroneninterferenzen.

Von G. Hass (Danzig). (Eingegangen am 9. Juli 1942)

Einführung.

In den letzten Jahren sind zahlreiche Untersuchungen an aufgedampften Metallschichten durchgeführt worden, die den Zweck hatten, die optischen, elektrischen und magnetischen Eigenschaften solcher Folien in Abhängigkeit von der Schichtdicke zu studieren oder mit Hilfe von Elektroneninterferenzen Aussagen über ihren strukturellen Aufbau zu machen (1). Der größte Teil der vorliegenden Arbeiten befaßte sich mit

den bei dünnen Schichten auftretenden Anomalien, die trotz der zahlreichen Untersuchungen heute noch auf verschiedene Weise erklärt werden. Es erschien daher wünschenswert, die oft diskutierte Frage nach Beschaffenheit aufgedampfter Metallschichten nochmals gründlich und direkt mit Hilfe des hochvergrößernden Übermikroskops und von Elektroneninterferenzen zu untersuchen. An Hand von Übermikroskop- und Elektronenbeugungsaufnahmen an demselben Präparat lassen sich nämlich sowohl Aussagen über den inneren Aufbau wie über die äußere Form und den Zusammenhalt der die Schicht aufbauenden Kristallite machen und Entscheidungen treffen, ob eine im übermikroskopischen Bild oft zu beobachtende Körnigkeit auf kleine Kristallite oder auf Dickenunterschiede in der Schicht zurückzuführen ist. Solche vergleichende übermikroskopische und elektroneninterferometrische Versuche haben bereits zu wesentlichen Einsichten über den Aufbau und das Verhalten elektrolytisch erzeugter und getemperter Aluminiumoxydfilme geführt (2).

Von Metallaufdampfschichten sind bereits von Mahl und Kinder einige übermikroskopische Aufnahmen (3) gezeigt worden. Sie lassen deutlich erkennen, daß solche Schichten aus mehr oder weniger großen Körnern zusammengesetzt sind und daß verschiedene Metalle sich beim Aufdampfen verschieden feinkörnig niederschlagen. Nähere Angaben über die Dicke der aufgenommenen Schichten wurden in diesen Arbeiten noch nicht gemacht. Ziel der vorliegenden Untersuchungen ist es nun, mit Hilfe von Übermikroskopaufnahmen und Elektroneninterferenzen den Aufbau solcher dünner Silber-, Aluminium- und Antimonaufdampfschichten in Abhängigkeit von der Schichtdicke auf verschiedenen Unterlagen zu studieren und daraus eine Erklärung für die bei sehr geringen Stärken auftretenden Widerstandsanomalien zu geben. Ferner soll mit Hilfe von Blattgold als Vergleichssubstanz eine genaue Bestimmung der Gitterkonstanten an aufgedampften Aluminium- und Silberfolien durchgeführt werden.

I. Experimenteller Teil.

Zur Herstellung und Auswertung der Interferenz- und Übermikroskopaufnahmen.

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe des Siemens-Übermikroskops durchgeführt, mit dem sich, wie O'Daniel und Radczewski (4) und E. Ruska (5) gezeigt haben, neben den hochvergrößernden Aufnahmen auf einfache Weise auch Elektroneninterferenzbilder von demselben Präparat herstellen lassen. Die Spannung konnte an dem benutzten Übermikroskop infolge der eingebauten Spannungsgleichhalter auch über längere Zeiten konstant gehalten werden, so daß mit Hilfe von Vergleichsaufnahmen eine genaue Gitterkonstantenbestimmung an unseren Aufdampffolien durchzuführen war. Als Normalsubstanz diente abgeätztes Blattgold mit einer Gitterkonstanten $a = 4{,}070$ ÅE. Die Spannungskonstanz wurde mit einem Starke-Schröder-Hochspannungsvoltmeter und durch vergleichende Blattgoldaufnahmen kontrolliert. Der Abstand vom Präparat zur Photoplatte betrug etwa 60 cm, so daß die Interferenzbilder eine hinreichende Größe besitzen, um eine genaue Ausmessung zu ermöglichen. Gearbeitet wurde im allgemeinen mit Spannungen zwischen 65 und 75 kV, die Belichtungszeiten betrugen 1 bis 3 sec.

Die Auswertung der Interferenzaufnahmen zur Gitterkonstantenbestimmung erfolgt nach der Bragg'schen Gleichung, die für kubische Kristalle

$$\sin\vartheta = \frac{\lambda}{2a}\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}$$

zu schreiben ist.

Es ist

$$\operatorname{tg} 2\vartheta = \frac{D_{hkl}}{2L},$$

wobei ϑ der Beugungswinkel, D_{hkl} der zur entsprechenden Netzebene gehörende Interferenzringdurchmesser und L Abstand Metallfolie—Photoplatte bedeuten. Für kleine Beugungswinkel läßt sich schreiben:

$$\sin\vartheta = \frac{D_{hkl}}{4L},$$

so daß bei konstantem λ und festem Abstand Präparat—Photoplatte für sämtliche Beugungsringe eines Präparates

$$\frac{D_{hkl}}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}} = \frac{2L\lambda}{a} = A$$

eine Konstante sein muß. Für größere Beugungswinkel muß D_{hkl}, wie es H. Boochs (6) zeigt, korrigiert werden. Bei den vorliegenden Untersuchungen ist diese Korrektur selbst bei den äußeren Ringen zu vernachlässigen, da sie innerhalb der Fehlergrenze liegt.

Die Gitterkonstante des zu untersuchenden Materials erhält man somit aus der bei gleicher Spannung in gleichem Abstand L durchgeführten Aufnahme an der Vergleichssubstanz (Blattgold) aus

$$\frac{A_{Au}}{A_x} = \frac{a_x}{a_{Au}}.$$

Die Genauigkeit unserer Gitterkonstantenangaben liegt bei 0,2 Proz.

Herstellung der Metallfolien.

Die Metallschichten wurden durch thermische Verdampfung bei gutem Vakuum in einer der üblichen Aufdampfapparaturen hergestellt. Die entsprechenden Metalle verdampften von vorher gut ausgeheizten Wolframwendeln oder aus Wolframschiffchen. Als Unterlage für die Schichten dienten Steinsalz-Spaltflächen, von denen die Folien zur Durchstrahlung mit Elektronen in Wasser leicht abzulösen sind, oder dünne Kollodiumhäutchen. In einigen Fällen wurden auch Aluminiumoxydfolien als Trägerschichten benutzt, die sich ebenso dünn wie Kollodiumhäutchen herstellen lassen, ebenfalls keine störende Eigenstruktur zeigen und viel stärkere mechanische und thermische Beanspruchungen vertragen. Der Abstand der Verdampfungsquelle von der zu bedampfenden Unterlage betrug etwa 30 cm und die Aufdampfzeit bis zu der jeweils gewünschten Dicke lag zwischen 2 und 60 sec. Es kamen also im wesentlichen nur schnell hergestellte Folien zur Untersuchung. Versuche an sehr langsam aufgedampften Schichten und Untersuchungen über den Einfluß der Aufdampfgeschwindigkeit auf den inneren Aufbau solcher Filme sollen in einer späteren Arbeit gemacht werden.

Schichtdicke.

Da der Aufbau der Metallschichten in Abhängigkeit von ihrer mittleren Schichtdicke studiert werden sollte, mußte bei den zu untersuchenden Aufdampffolien auch die jeweilige Dicke ermittelt werden. Dies geschah größtenteils optisch, indem mittels Photozelle Reflexion und Durchlässigkeit an den entsprechenden Schichten gemessen wurde. Die von J. Krautkrämer an Silber (7) und W. Walkenhorst an Aluminium (8) durchgeführten Untersuchungen über die Abhängigkeit der Reflexion und Durchlässigkeit von der Schichtdicke dienten zur Auswertung. Bei Antimon sowie bei mehreren dicken Silber- und Aluminiumschichten erfolgte die Dickenbestimmung durch Wägung der aufgedampften Metallmenge mit einer empfindlichen Mikrowaage. Dabei wurde für das aufgedampfte Metall eine normale Dichte angenommen, was bei unseren Versuchen insofern berechtigt ist, als nur schnell aufgedampfte Schichten zur Untersuchung kamen und solchen schnell hergestellten Folien nach den Versuchen von W. Walkenhorst an Aluminium (8) eine normale Dichte zukommt. Bei sehr dünnen Schichten, deren Stärke direkt schlecht meßbar war, wurde aus einer in kleinerer Entfernung von der Verdampfungsquelle entsprechend stärker niedergeschlagenen und ausgewerteten Metallmenge auf die Dicke geschlossen. — Alle angegebenen Dickenwerte stellen mittlere oder „Gewichtsdicken" dar, entsprechen also einer gleichmäßigen Bedeckung der Unterlage. Bei dünneren Schichten ist jedoch die Unterlage, wie später näher gezeigt werden soll, nur zum Teil mit Metall belegt, so daß die wahre Dicke in diesem Fall also größer ist.

II. Ergebnisse und ihre Diskussion.

In folgendem sollen nun die an verschiedenen Aufdampfschichten gewonnenen Übermikroskopaufnahmen mit ihren dazu gehörigen Beugungsbildern erläutert und diskutiert werden. Ein Unterschied zwischen den auf Kollodium und Aluminiumoxyd entsprechend aufgedampften Metallschichten war auf Beugungs- und Übermikroskopaufnahmen nicht festzustellen, während bei Silber die auf frische Spaltflächen von Steinsalz niedergeschlagenen Folien etwas anderen Aufbau zeigten.

1. Silber.

A. Auf Kollodium- und Aluminiumoxydträgerfolien. Sehr dünne, auf Kollodium und Aluminiumoxyd aufgedampfte Silberschichten lassen eine große Anzahl von Körnern erkennen, die zum größten Teil völlig isoliert voneinander liegen. Fig. 1 und 2 zeigen z. B. Übermikroskop- und Beugungsaufnahmen einer Silberfolie von etwa 30—40 ÅE mittlerer Dicke. Die einzelnen Körner haben hier auf der Unterlage einen Durchmesser von 100 bis 150 ÅE. Das Beugungsbild zeigt das normale Kristallgitter an, jedoch sind die Beugungsringe noch sehr breit und verwaschen, so daß die einzelnen Kristallite noch sehr klein sein müssen. Die erkennbaren Körner werden sicher noch aus mehreren Kriställchen aufgebaut sein. Die von vielen Autoren festgestellte mangelnde Leitfähigkeit solcher sehr dünnen Silberschichten ist danach eindeutig auf den fehlenden Kontakt der die Schicht aufbauenden Körner zurückzuführen. Diese Auffassung ist bereits in der Arbeit von J. Krautkrämer (7) sehr bestimmt vertreten und diskutiert.

Mit zunehmender Schichtdicke und vor allem beim Aufdampfen auf etwas erwärmte Unterlage entstehen größere, ebenfalls noch völlig voneinander isolierte Körner. Fig. 3 und 4 geben die Beugungs- und Übermikroskopaufnahmen einer Silberfolie von etwa 80 ÅE Dicke wieder, die auf

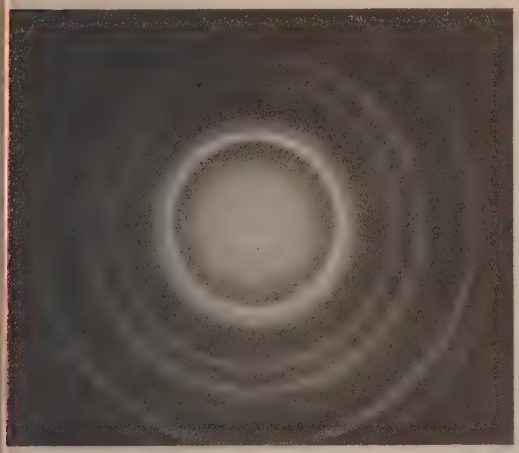


Fig. 1. Silber auf Kollodium, $d \sim 35$ ÅE (5343/40).

Fig. 2. Übermikroskopbild der ~35 ÅE dicken Silberschicht. Vergr.: El.-optisch 33000 : 1 (5058/40).

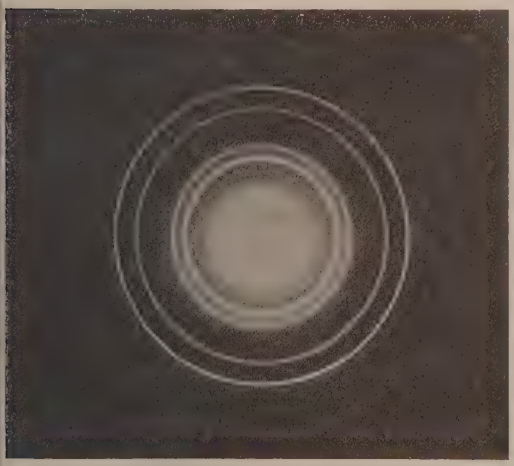


Fig. 3. Silber auf erwärmtem Aluminiumoxyd, $d \sim 80$ ÅE (3568/40).

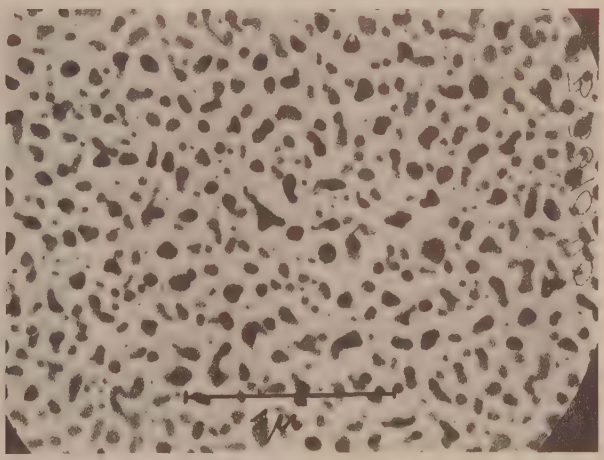


Fig. 4. Übermikroskopbild der auf erwärmtes Aluminiumoxyd ~80 ÅE dick aufgedampften Silberschicht. Vergr.: El.-optisch 30000 : 1 (3610/40).

einer Aluminiumoxydträgerschicht hergestellt wurde. Die Unterlage war durch längeres Bestrahlen mit dem zum Verdampfen benutzten Wolframschiffchen vorher etwas erwärmt worden. Einige Körner erreichen Linearausdehnungen bis über 1000 ÅE. Aus der Schärfe der Beugungsringe kann man ebenfalls feststellen, daß die mittlere Kristallitgröße bedeutend angewachsen ist. Es ist jedoch anzunehmen, daß viele der großen Körner hier noch aus mehreren Kristalliten aufgebaut sind, da sie keine scharfen Kanten an den Grenzen zeigen und bei genauer Betrachtung innerlich etwas verschiedene Struktur aufweisen. Eine meßbare Leitfähigkeit ist bei dem mangelnden Kontakt der einzelnen Körner in solcher Schicht ebenfalls noch nicht zu erwarten. Die Unterlage ist hier nur zu etwa 30 Proz. mit dem aufgedampften Silber bedeckt. Auf genauere Untersuchungen über das Aussehen und den Aufbau der auf erwärmten Unterlagen verschiedener Temperatur hergestellten Metallfolien soll in einer späteren Arbeit von G. Hass und H. Kehler eingegangen werden.

Mit zunehmender Metallmenge werden die Lücken zwischen den einzelnen Körnern mehr und mehr aufgefüllt, und es entstehen zusammenhängende Metallfolien. Fig. 5 und 6 zeigen Aufnahmen an einer etwa 150 ÅE starken, auf Kollo-

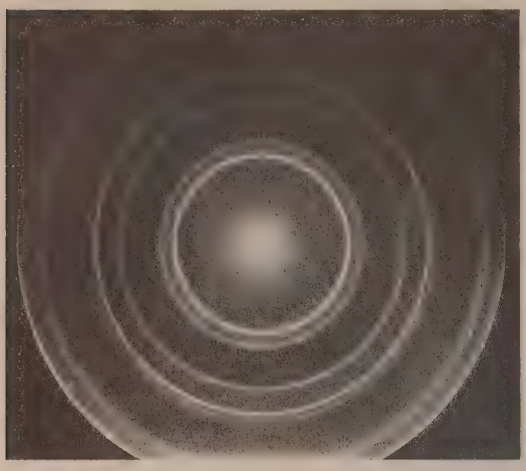


Fig. 5. Silber auf Kollodium, $d \sim 150$ ÅE (6175/40).

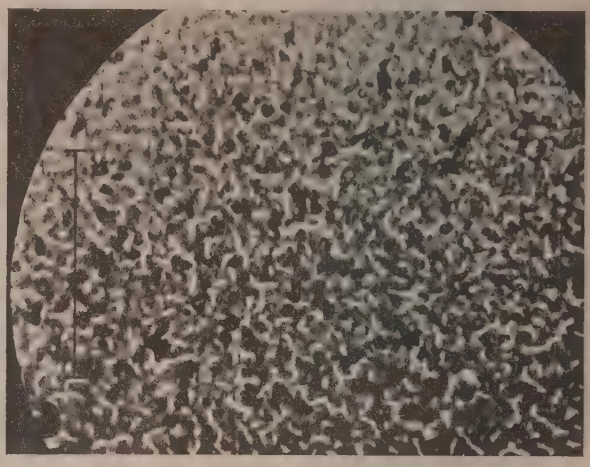


Fig. 6. Übermikroskopbild der ~150 ÅE dicken Silberschicht. Vergr.: El.-optisch 32000 : 1 (6311/40).

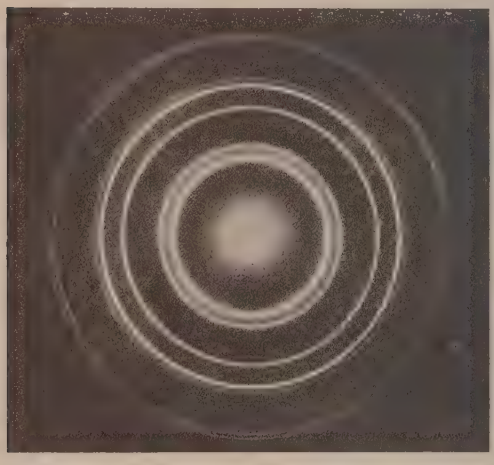


Fig. 7. Silber auf Kollodium $d \sim 350$ ÅE (3392/40).

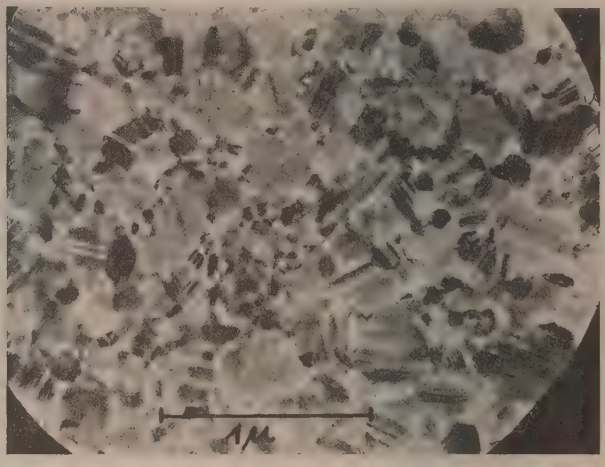


Fig. 8. Übermikroskopbild der ~350 ÅE dicken Silberschicht. Vergr.: El.-optisch 30000 : 1 (3429/40).

dium aufgedampften Silberschicht. Hier ist schon zwischen den meisten Körnern Kontakt hergestellt, zwischen vielen sind jedoch noch freie Stellen, so daß solche Schichten zwar schon eine gut meßbare, gegenüber dem kompakten Metall allerdings sicher noch viel zu geringe Leitfähigkeit besitzen müssen.

Auf der übermikroskopischen Aufnahme sind jetzt auch bereits einzelne Kristallite zu erkennen.

Mit weiterem Aufdampfen verschwinden auch die letzten Lücken zwischen den einzelnen Körnern, und es bilden sich größere Kristallite aus. In Fig. 7, 8 und Fig. 9, 10 sind Übermikroskop- und Beugungsaufnahmen einer 350 ÅE und einer 550 ÅE dicken, auf Kollodium hergestellten Silberschicht wiedergegeben. Das Weiterwachsen der Schichten erfolgt danach so, daß die einzelnen Kristallite mit Hilfe des neuen hinzukommenden Materials und auf Kosten vieler kleiner, also durch Sammelkristallisation, größer werden. Verschiedene gleich dicke Schichten zeigen allerdings oft sehr verschiedene Kristallitgrößen. Mit zunehmender Schichtdicke wird also zunächst die Anzahl der die Schicht aufbauenden Kristallite kleiner.

Das kommt auch deutlich auf dem Beugungsbild der 550 ÅE dicken Schicht (Fig. 9) zum Ausdruck. Hier sind die Debye-Scherrer-Ringe nicht mehr kontinuierlich geschwärzt, sondern in einzelne Punkte aufgelöst, da die Anzahl der Kristallite im durchstrahlten Volumen nicht mehr

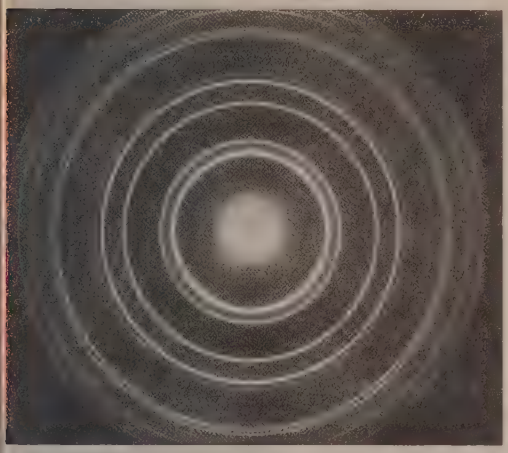


Fig. 9. Silber auf Kollodium, $d \sim 550$ ÅE (3597/40).

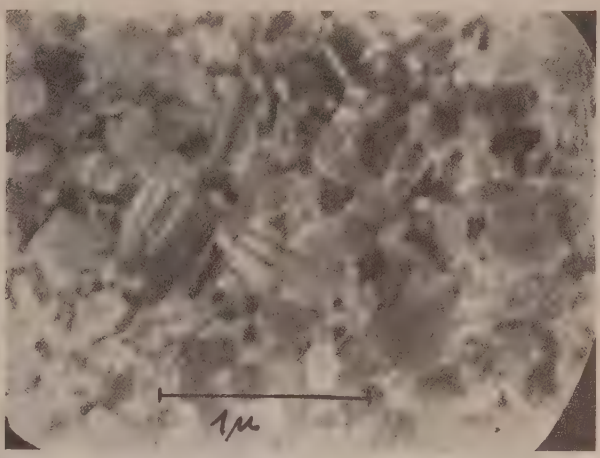


Fig. 10. Übermikroskopbild der ~550 ÄE dicken Silberschicht. Vergr.: El.-optisch 30000 : 1 (3629/40).

Fig. 11. Optische Nachvergrößerung der in Fig. 8 gezeigten ~350 ÄE dicken Silberschicht. Vergr.: 90000 : 1 (3429/40).

ausreicht, um einen gleichmäßigen Interferenzring zu geben. Nach F. Kirchner (9) müssen zur Erzeugung eines normalen Pulverdiagrammes mit kontinuierlich geschwärzten Beugungsringen mindestens 10^5 bis 10^6 Kristallite in regelloser Orientierung vorhanden sein. Bei dem benutzten Strahlquerschnitt von ca. 10^{-4} cm² und unter der Annahme, daß nicht mehrere Kristallite übereinander liegen, darf ein Kristall im Mittel nur eine Fläche von 10^{-9} cm² bis 10^{-10} cm² einnehmen oder Linearausdehnungen von etwa 1000 ÅE haben, damit gerade noch Beugungsringe gleichmäßiger Schwärzung entstehen können. In Fig. 9 entsprechen etwa 1000 ÅE 3,0 mm. Die meisten Kristallite sind also hier bereits weit über 1000 ÅE hinausgewachsen, und einige erreichen sogar

Linearausdehnungen von 5000 ÅE, so daß gleichmäßig geschwärzte Debye-Scherrer-Ringe von einer solchen Schicht nicht mehr zu erwarten sind. Die Übermikroskopaufnahme der etwa 350 ÅE dicken Folie (Fig. 8) zeigt ebenfalls schon einige sehr große Kristallite (bis 4000 ÅE). Da das entsprechende Beugungsbild jedoch noch normale Pulverinterferenzen gibt, müssen sich in dieser Schicht auch noch sehr viele kleine Kriställchen in regelloser Orientierung befinden. In Fig. 11 ist nochmals eine optische Nachvergrößerung der in Fig. 8 gezeigten 350 ÅE dicken Silberschicht wiedergegeben, auf der Einzelheiten besser zu ersehen und die noch vorhandenen vielen kleineren Kristallite deutlich zu erkennen sind.

B. Silber auf Steinsalz. Beim Aufdampfen auf frische Spaltflächen von Steinsalz wachsen bereits bei Zimmertemperatur die Silberschichten teilweise orientiert zur Unterlage auf, wie schon von mehreren Autoren gefunden wurde (10, 11). Man erhält deshalb an solchen Schichten ausgesprochene Faserdiagramme. Fig. 12 gibt das Beugungsbild einer dünnen, auf Steinsalz aufgedampften Silberfolie wieder. Auf der entsprechenden Übermikroskopaufnahme dieser Schicht (Fig. 13) sieht man, daß sich Silber auf Steinsalz

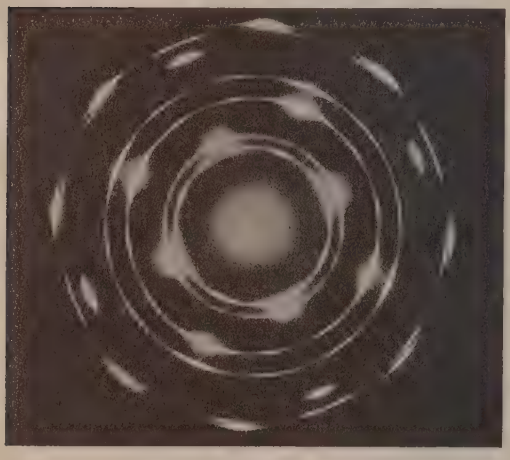


Fig. 12. Silber auf Steinsalz, $d \sim 130$ ÅE (3577/40).

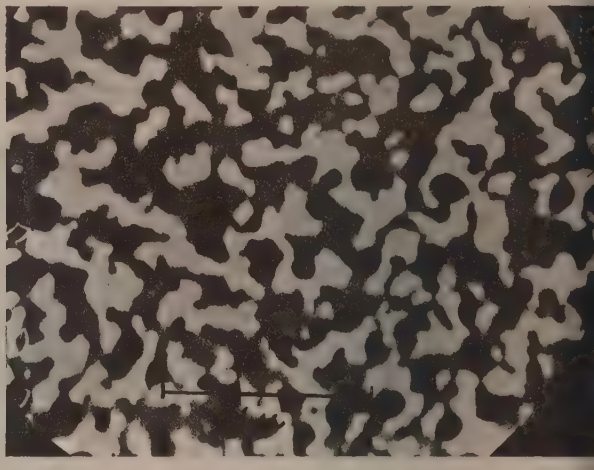
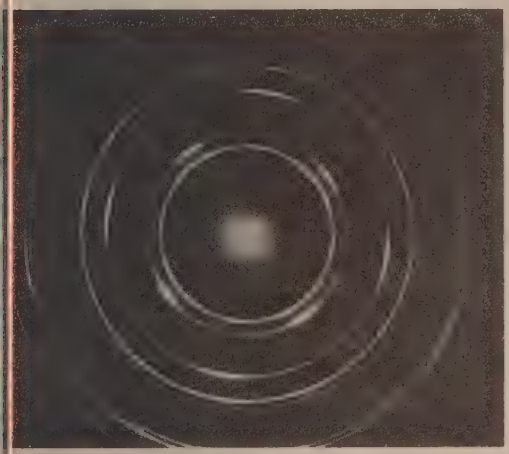


Fig. 13. Übermikroskopbild der ~130 ÅE dicken auf Steinsalz aufgedampften Silberschicht. Vergr.: El.-optisch 30000 : 1 (3426/40).

nicht so stark zu isolierten Körnern zusammenzieht, sondern sich gleichmäßiger an die Unterlage anlegt. Diese dünne Schicht hier wird jedoch beim Ablösen in Wasser etwas zerstört und aufgelockert worden sein.

Mit zunehmender Schichtdicke werden auch auf Steinsalz die einzelnen Kristallite immer größer. Auf den Fig. 14 und 15 sowie 16 und 17, die an 200 ÅE bzw. 350 ÅE dicken Schichten gewonnen wurden, ist dies deutlich zu erkennen. Die Größe der Kristallite ist hier etwa die gleiche, wie sie eine entsprechend dicke, auf Kollodium oder Aluminiumoxyd aufgedampfte Folie zeigen würde. Die im Beugungsbild angedeutete bevorzugte Lage einzelner Kriställchen zur Unterlage ist im Übermikroskopbild deutlich zu erkennen (Fig. 16, 17).

Die Gitterkonstante von Silber wurde an mehreren auf Kollodium und Steinsalz aufgedampften Schichten mit großen Kristalliten bestimmt, da hier besonders scharfe, gut auszuwertende Beugungsringe auftreten. Die Gitterkonstanten gaben bei den verschiedenen Schichten innerhalb der Fehlergrenze übereinstimmende Werte. Der Mittelwert aller gemessenen Werte lag bei $a = 4{,}085 \pm 0{,}01$ ÅE, stimmt also innerhalb der Fehlergrenze mit dem aus Röntgenuntersuchung an massivem Silber ermittelten Wert ($a = 4{,}079$ ÅE) überein. Ob die Gitterkonstante von Silber mit abnehmender Teilchengröße zunimmt, wie es R. Riedmiller (12) und H. Boochs (6) an Nickel gefunden haben, oder ob sie, wie bei Gold, bis zu kleinsten Werten konstant bleibt (6), soll in einer späteren Untersuchung geprüft werden.



ig. 14. Silber auf Steinsalz, $d \sim 200$ ÅE (5056/40).

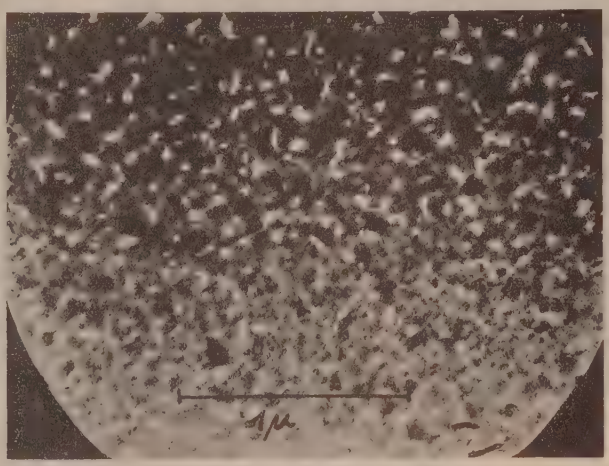


Fig. 15. Übermikroskopbild der ~200 ÅE dicken auf Steinsalz aufgedampften Silberschicht. Vergr.: El.-optisch 33000 : 1 (5074/40).

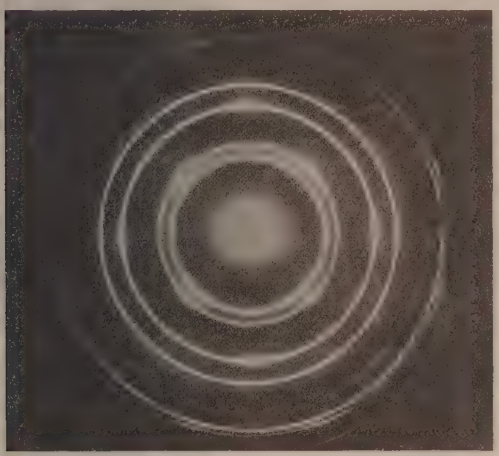


Fig. 16. Silber auf Steinsalz, $d \sim 350$ ÅE (3397/40).

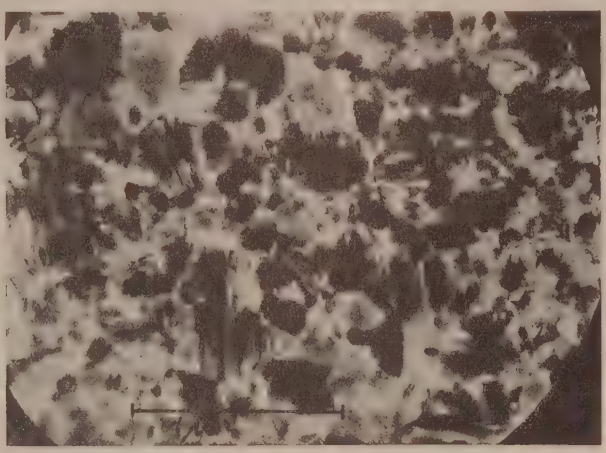


Fig. 17. Übermikroskopbild der ~350 ÅE dicken auf Steinsalz aufgedampften Silberschicht. Vergr.: El.-optisch 30000 : 1 (3424/40).

2. Aluminium.

Bei Aluminium zeigen die auf verschiedene Unterlage bei Zimmertemperatur aufgedampften Metallschichten gleiches Aussehen und lassen alle erkennen, daß aufgedampfte Aluminiumschichten viel feinkörniger, feinkristalliner und gleichmäßiger als Silberschichten gleicher Dicke aufgebaut sind. In den Fig. 18 und 19, 20 und 21 sowie 22 und 23 sind die Aufnahmen von 70 ÅE, 250 ÅE und 500 ÅE dicken Aluminiumaufdampfschichten wiedergegeben.

Die dünnste Schicht zeigt nur sehr kleine Körner mit einem Durchmesser von unter 100 ÅE. Da das dazugehörige Interferenzbild relativ scharfe Beugungsringe gibt, ist anzunehmen, daß diese Körner hier bereits einzelne Kristallite darstellen. Mit zunehmender Schichtdicke werden auch bei Aluminium die einzelnen Körner größer. Bei der 250 ÅE dicken Schicht sieht man bereits deutlich einzelne Kristallite, die mit ihren Kanten aus der Schicht herauswachsen. Die Linearausdehnung selbst der größten hier erkennbaren Kristallite ist jedoch noch kaum über 300 ÅE, während bei Silber sich schon in dünneren Schichten (Fig. 15) einzelne Kriställchen mit über 1000 ÅE Größe ausbilden.

Selbst die hier abgebildete dickste, optisch

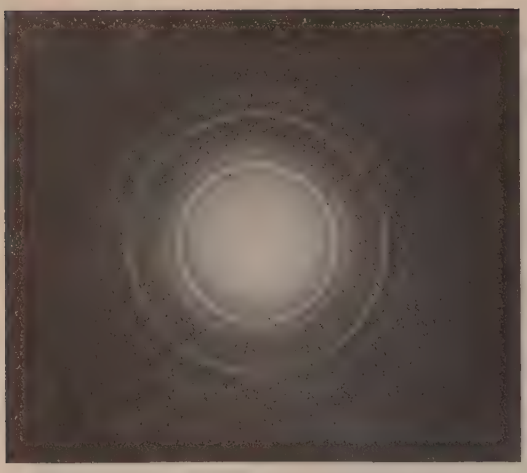


Fig. 18. Aluminium auf Kollodium, $d \sim 70$ ÅE (3722/40).

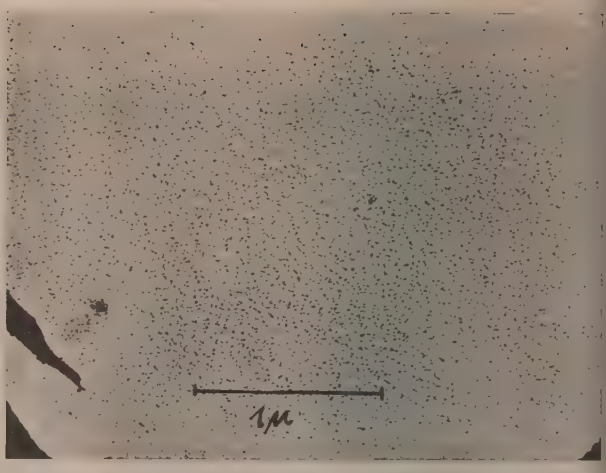


Fig. 19. Übermikroskopbild der ~70 ÅE dicken Aluminiumschicht. Vergr.: El.-optisch 26000:1 (3971/40).

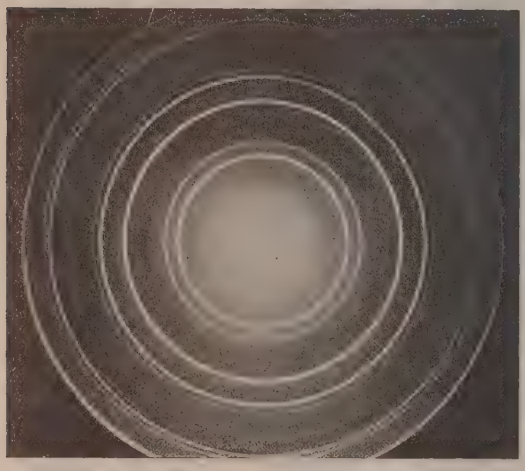


Fig. 20. Aluminium auf Kollodium, $d \sim 250$ ÅE (5842/41).

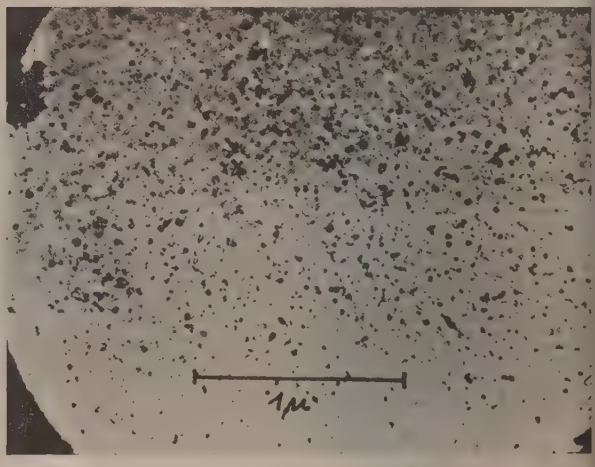


Fig. 21. Übermikroskopbild der ~250 ÅE dicken Aluminiumschicht. Vergr.: El.-optisch 31000:1 (5964/41).

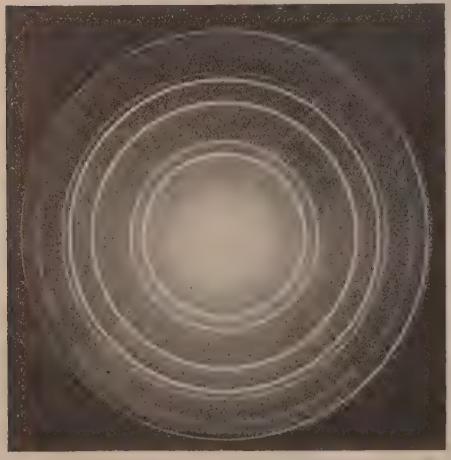


Fig. 22. Aluminium auf Aluminiumoxyd, $d \sim 500$ ÅE (3159/42).

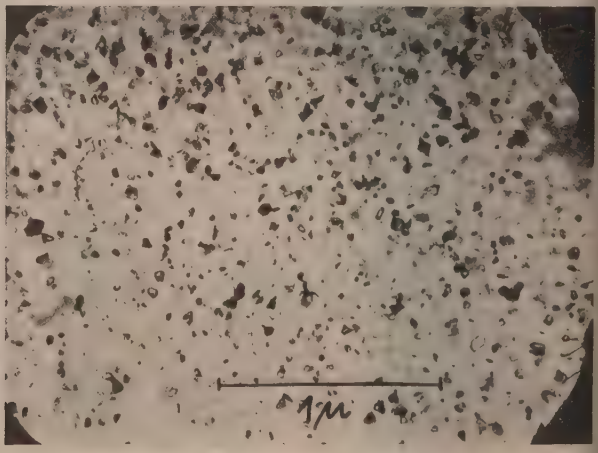


Fig. 23. Übermikroskopbild der ~500 ÅE dicken Aluminiumschicht. Vergr.: El.-optisch 32000:1 (3176/42).

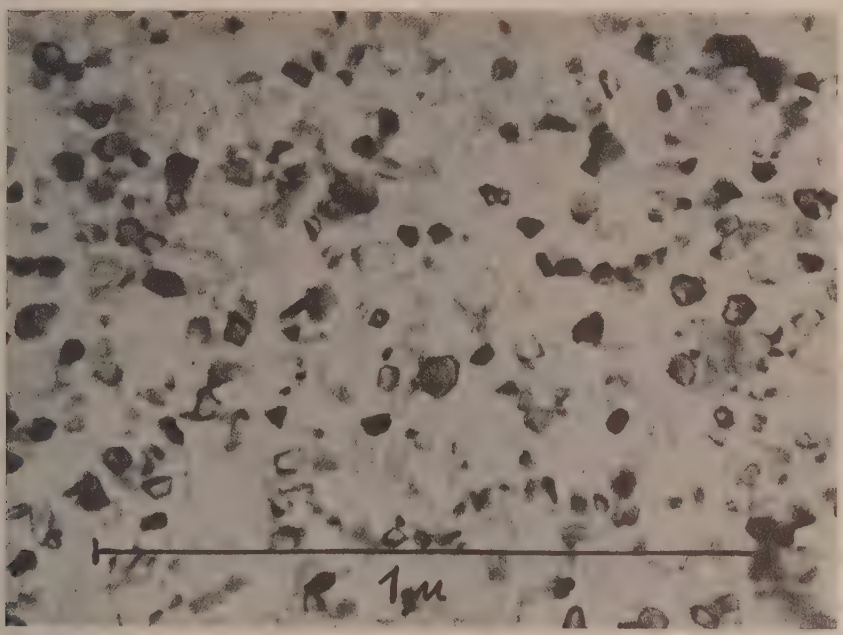


Fig. 24. Optische Nachvergrößerung der in Fig. 23 abgebildeten ~500 ÅE dicken Al-Schicht. Vergr.: 96000 : 1 (3176/42).

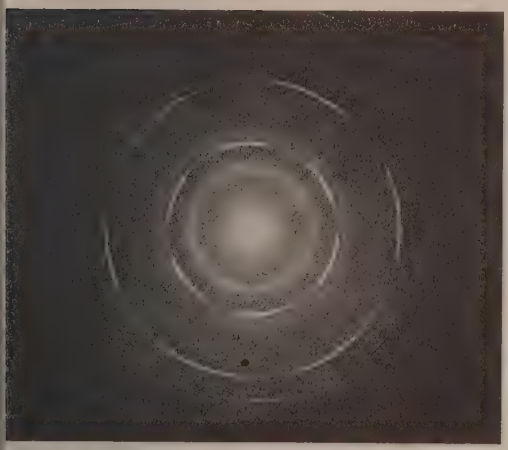


Fig. 25. Antimon auf Kollodium, $d \sim 150$ ÅE (3836/40).

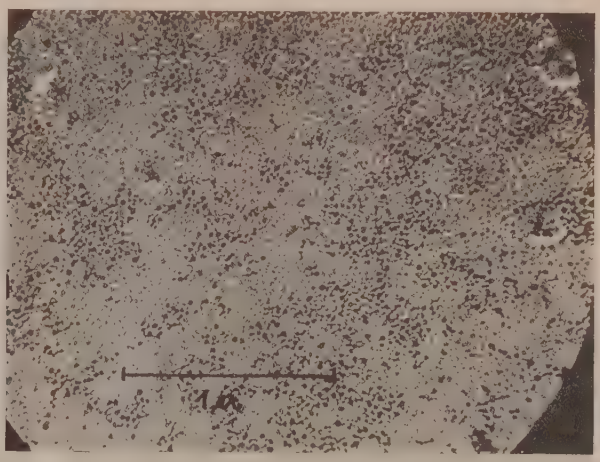


Fig. 26. Übermikroskopbild der ~150 ÅE dicken Antimonschicht. Vergr.: El.-optisch 30000 : 1 (3843/40).

schon praktisch undurchsichtige Aluminiumschicht zeigt noch keine Einzelkristalle mit über 1000 ÅE Ausdehnung. Man sieht an ihr aber besonders deutlich, daß eine große Anzahl von Kriställchen aus der Oberfläche herausragen. Die Schicht ist zwar optisch viel glatter als ein entsprechend aufgedampfter Silberspiegel, besitzt jedoch schon die Rauhigkeit, um bei Streifaufnahmen mit schnellen Elektronen scharfe Beugungsbilder zu geben.

Die in Reflexion an solchen Schichten entstehenden scharfen Beugungsdiagramme sind nur auf eine Durchstrahlung der aus der Oberfläche herausragenden Kristallblöcke zurückzuführen (13, 14, 15). An einer ideal glatten Oberfläche könnten durch echte Reflexion keine scharfen

Fig. 27. Optische Nachvergrößerung der in Fig. 26 abgebildeten ~150 ÅE dicken Antimonschicht. Vergr.: 90000 : 1 (3843/40).

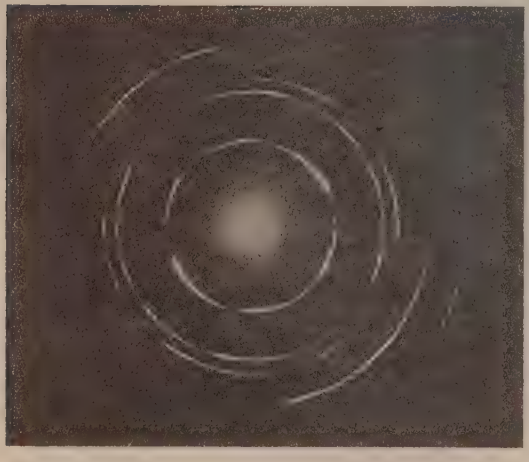


Fig. 28. Antimon auf Kollodium, $d \sim 400$ ÅE (3776/40).

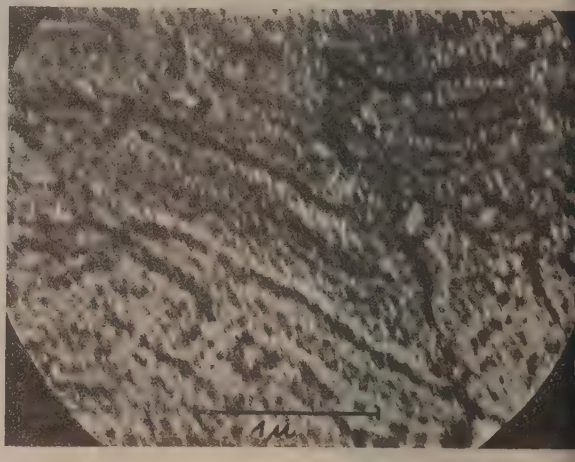


Fig. 29. Übermikroskopbild der ~400 ÅE dicken Antimonschicht. Vergr.: El.-optisch 26000 : 1 (3761/40).

Interferenzen auftreten, da wegen der kleinen Wellenlänge schneller Elektronen sehr kleine Reflexionswinkel nötig sind, so daß die Eindringtiefe senkrecht zur Oberfläche nur sehr gering ist (~ 1 bis $2 \cdot 10^{-7}$ cm) und somit nur sehr wenig Atomschichten der Oberfläche an der Entstehung des Beugungsbildes mitwirken können. Das Auftreten scharfer Beugungsringe bei Reflexionsaufnahmen setzt also viel aus der Oberfläche herausragende, für die Elektronen noch gut durchlässige (Grenzdicke etwa 1000 ÅE) Kristallkanten voraus. Auf den Übermikroskopaufnahmen an aufgedampften Aluminiumschichten (besonders auf Fig. 23) sieht man deutlich viele solche unter

1000 ÅE dicke, aus der Oberfläche herausgewachsene Kristallblöcke. Die Reflexionsaufnahmen an solchen schnell und dick auf Glas oder Kollodium aufgedampften Aluminiumschichten zeigen jedoch nicht nur scharfe Interferenzen, sondern auch ein ausgesprochenes Faserdiagramm, während in Durchstrahlung (Fig. 22) die gleiche Folie nur ein normales Pulverdiagramm mit gleichmäßig geschwärzten Beugungsringen und normaler Intensität erkennen läßt. In der Gesamtschicht liegen demnach die einzelnen Kristalle vollkommen regellos, während in den Zacken der Oberfläche Vorzugsrichtungen auftreten. Das ist so zu erklären, daß solche Kriställchen, die sich in gewissen ausgezeichneten Lagen befinden, schneller weiter wachsen und deshalb in größerer Zahl in den aus der Oberfläche herausragenden Kristallblöckchen beobachtet werden. Auf diese Weise wird durch Reflexionsaufnahmen eine Orientierung der Gesamtschicht vorgetäuscht. Eine ähnliche Erscheinung ist von O. Rüdiger (16) beim Aufdampfen von Gold auf erwärmte Glimmerunterlage beobachtet worden. Bei ihm zeigte die Reflexionsaufnahme ein Einkristallbild, während in Durchstrahlung ein Faserdiagramm zu erkennen war, was bedeutet, daß neben den vollkommen gleich orientierten, aus der Oberfläche herausragenden Kristalliten in der Gesamtschicht auch noch viele nichtorientierte Kristalle enthalten waren.

Um ein deutliches Bild von den teilweise orientiert aus der Aluminiumoberfläche herauswachsenden Kristallblöckchen zu geben, ist in Fig. 24 nochmals eine optische Nachvergrößerung der in Fig. 23 abgebildeten $\sim$ 500 ÅE dicken Al-Schicht gezeigt.

Die Gitterkonstante des Aluminiums wurde an mehreren dicken, also „grobkristallinen" Aufdampfschichten zu

$$a = 4{,}05 \pm 0{,}01 \text{ ÅE}$$

ermittelt. stimmt also auch innerhalb der Fehlergrenze mit dem aus Röntgenuntersuchung bekannten Wert von $a = 4{,}041$ ÅE überein.

3. Antimon.

Antimon zeigt beim Verdampfen auf Kollodium und Aluminiumoxyd schon bei Zimmertemperatur stets eine ausgesprochene Faserstruktur, die daher rührt, daß sich die einzelnen Kriställchen mit ihrer (0001)-Ebene bzw. bei rhomboedrischer Beschreibung mit der (111)-Ebene parallel zur Unterlage orientieren. Bei dünnen Schichten ist diese Orientierung besonders streng eingehalten, so daß man im Beugungsbild bei senkrechter Durchstrahlung nur wenige Interferenzringe sieht, da nur wenige Netzebenen in richtiger Reflexionsstellung liegen. Fig. 25 und 26 zeigen Aufnahmen an einer etwa 150 ÅE dicken Antimonschicht, und Fig. 27 stellt eine Nachvergrößerung der in Fig. 26 wiedergegebenen übermikroskopischen Aufnahme dar, auf der Einzelheiten besser zu erkennen sind. Da im Beugungsbild extrem scharfe Interferenzen auftreten, ist mit Sicherheit anzunehmen, daß die hier erkennbaren Körner von ungefähr 200 ÅE Durchmesser einzelne Kristallite darstellen. Eine solche dünne Antimonschicht ist danach aus ziemlich gleichgroßen 6eckigen Kristallsäulen aufgebaut.

Mit weiterem Aufdampfen geht bei Antimon die beschriebene strenge Orientierung teilweise verloren, da neue Kristalle entstehen, die in anderen Richtungen zur Unterlage aufwachsen. Fig. 28 und 29 geben Aufnahmen an einer etwa 400 ÅE dicken Antimonschicht wieder. Man sieht hier im Übermikroskopbild Verwerfungen, die sich wie Wälle über die Schicht hinziehen. Im Beugungsbild sind neue Reflexe zu beobachten, da nun auch weitere Netzebenen in geeigneter Reflexionsstellung stehen.

Zusammenfassung.

Mit Hilfe von vergleichenden Elektroneninterferenz- und Übermikroskopaufnahmen wurden Untersuchungen über den Aufbau aufgedampfter Silber-, Aluminium- und Antimonschichten verschiedener Dicke durchgeführt. Als Unterlage für die Folien dienten dünne Kollodium- oder Aluminiumoxydträger und Steinsalzspaltflächen.

Sehr dünne Silberschichten sind aus einzelnen Körnern aufgebaut, die keinerlei Kontakt miteinander haben, so daß solche Schichten auch keine Leitfähigkeit zeigen können. Mit zunehmender Schichtdicke werden die Zwischenräume zwischen den einzelnen Körnern aufgefüllt, und es entstehen größere Kristallite, die bei einer Schicht von 550 ÅE Dicke bereits Linearausdehnungen von über 5000 ÅE erreichen. Einzelne Kriställchen wachsen also mit Hilfe des neu hinzukommenden Materials und auf Kosten vieler kleinerer besonders stark an. Die Gitterkonstante von Silber wurde an solchen dickeren Schichten mit großen Kristallen zu $4{,}085 \pm 0{,}01$ ÅE bestimmt.

Aluminiumschichten zeigen einen viel feinkörnigeren und feinkristallineren Aufbau als gleich dicke Silberfolien. Die Gitterkonstante des Aluminiums wurde an dicken Schichten zu

$$a = 4{,}05 \pm 0{,}01 \text{ ÅE}$$

ermittelt.

Dünne Antimonschichten geben schon bei Zimmertemperatur vollkommene Orientierung der einzelnen Kriställchen mit der (0001)-Ebene parallel zur Unterlage und zeigen besonders gleichmäßige Korngröße. Mit zunehmender Schichtdicke geht dagegen diese Orientierung mehr und mehr verloren, und es treten deutlich erkennbar Verwerfungen in den Schichten auf.

Schrifttum.
1. R. Ritschl, Metallwirtsch. **18**, 563 (1939). (Sammelreferat mit ausführlichem Literaturverzeichnis.)
2. G. Hass und H. Kehler, Kolloid-Z. **97**, 27 (1941).
3. H. Mahl, Z. techn. Phys. **20**, 316 (1939) und Elektronenmikroskop, Bericht über die Arbeiten des AEG.-Forschungsinstituts 1930 bis 1941, 110 (1942).
4. H. O'Daniel und O. E. Radczewski, Naturwiss. **28**, 628 (1940).
5. E. Ruska, Wiss. Veröff. Siemens, Werkstoffsonderheft **1940**, 372.
6. H. Boochs, Ann. d. Phys. **35**, 33 (1939).
7. J. Krautkrämer, Ann. d. Phys. **32**, 537 (1938).
8. W. Walkenhorst, Z. techn. Phys. **22**, 14 (1941) und Dissertation (Hannover 1940).
9. F. Kirchner, Erg. techn. Röntgenkunde Bd. IV, 163 (1934).
10. H. Lassen, Physik. Z. **35**, 172 (1934).
11. L. Brück, Ann. d. Phys. **26**, 233 (1936).
12. R. Riedmiller, Z. Physik **102**, 408 (1936).
13. F. Kirchner, Erg. exakt. Naturwiss. **11**, 72 (1932).
14. F. Kirchner, Ann. d. Phys. **28**, 21 (1937).
15. W. Papsdorf, Ann. d. Phys. **28**, 255 (1937).
16. O. Rüdiger, Ann. d. Phys. **30**, 505 (1937).

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.

Über monodisperse Myosinlösungen.

Von G. Schramm (Berlin-Dahlem) und H. H. Weber (Königsberg).

(Eingegangen am 10. Juni 1942)

Die kontraktilen Abschnitte der Muskelfibrillen unterscheiden sich von allen übrigen Faserstoffen dadurch, daß sie sich äußerst leicht und ausgiebig aktiv kontrahieren und in Ruhe ungewöhnlich leicht dehnen lassen. Während z. B. der Elastizitätsmodul von ungedehnter Sehne ~ 30[1]), von mäßig vulkanisiertem Kautschuk[2]) $\sim 0{,}1$ ist, beträgt der Elastizitätsmodul des ungedehnten Muskels $\lesssim 0{,}01$[1]) kg/mm². Die Q-Abschnitte des Skelettmuskels bestehen aus dem stäbchenförmigen Eiweißstoff Myosin. Aus Myosin lassen sich auch hochelastische Fäden spinnen. Es ist für die elastischen Längenänderungen beider Gebilde sicher, für die aktive Längenänderung nicht unwahrscheinlich, daß die Längenänderungen des Gesamtgebildes ausschließlich auf einer Längenänderung dieser Myosin-Einzelstäbchen beruhen — nicht etwa auf einer Änderung in der Anordnung der Stäbchen. Die Stäbchen enthalten nur etwa 30 Proz. Wasser[3]). So wasserarme Eiweißstrukturen aber sind sonst starr. Offenbar hindern sich die Eiweißmoleküle infolge ihrer vielen polaren Gruppen gegenseitig an ihrer Umordnung (Streckung oder Faltung), wenn nicht genügend Quellungswasser vorhanden ist. Es müssen also in der Struktur der Myosinstäbchen Besonderheiten vorliegen, damit die aktiven und passiven Längenänderungen in der beobachteten Art überhaupt stattfinden können.

Diese Besonderheiten liegen mit Sicherheit nicht in einem Mangel an polaren Gruppen. Denn die Myosinstäbchen geben röntgenographisch ein Faserdiagramm[3]), bestehen also aus Peptidketten, die durch Kohäsionskräfte in achsenparalleler Anordnung recht fest zusammengehalten werden, und nicht aus mehr oder minder voneinander unabhängigen einzelnen Ketten in statistischer Verknäuelung. Die einzelnen Peptidbündel sind nun sehr dünn, der Durchmesser der Eiweißstäbchen ist anscheinend kleiner als 4—5 mμ[3]); diese dünnen, wasserarmen Stäbchen sind getrennt durch etwa doppelt so breite, wassergefüllte Spalten, wenn das Gesamtgebilde — Q-Abschnitt oder Myosinfaden — sich im physiologischen Quellungszustand mit einem Wassergehalt von 80 Proz. befindet[3]). Infolgedessen erscheinen Längenänderungen möglich, ohne daß sich die Peptidketten gegeneinander zu verschieben brauchen: Die wenigen Ketten des Stäbchens könnten sich z. B. gleichzeitig und im gleichen Querschnitt des Bündels falten oder auffalten — gewissermaßen im Gleichschritt (Fig. 1). Die Wahrscheinlichkeit solcher Organisation und solchen Vorgangs wächst mit abnehmender Dicke der einzelnen Stäbchen. Sie wäre für alle Stäbchen gleich, wenn alle Stäbchen gleich dick wären.

[1]) E. Wöhlisch und H. G. Clamann, Klin. Wschr. **12**, 1859 (1933).
[2]) K. H. Meyer und H. Mark, Chemie der Hochpolymeren Bd. 2 (Leipzig 1940), 155.
[3]) H. H. Weber, z. B. Naturwiss. **27**, 33 (1939), daselbst weitere Literatur.

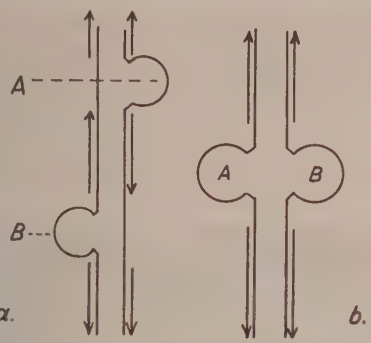


Fig. 1. Die gleichzeitige Streckung der Falten A und B der beiden Fadenmoleküle führt in 1a zu einer Verschiebung der Moleküle gegeneinander auf der Strecke AB; in 1b verschieben sich die Moleküle bei der Streckung nicht gegeneinander.

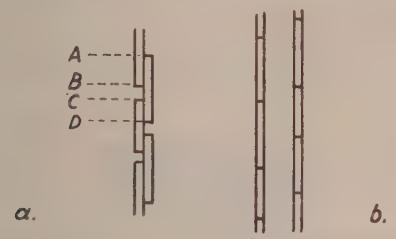


Fig. 2. Die Balken bedeuten je ein Myosinstäbchen. Auf den Strecken seitlicher Berührung A—B, C—D usw. würden Spannungen eintreten, wenn die Längenänderung der beiden Stäbchen nicht ebenfalls „im Gleichschritt" erfolgte. In 2b ist gegenseitige Reibung der Stäbchenketten ausgeschlossen.

Eine solche Organisation wäre wirkungslos oder in ihrer Wirkung sehr gemindert, wenn die einzelnen Stäbchen sich zur Fibrille durch Kohäsion ihrer Seitenflächen zusammenfügten — etwa indem sie sich überlappend aneinanderlegen (Fig. 2). Denn es ist wenig wahrscheinlich, daß auch noch die verschiedenen Stäbchen in den gemeinsamen Querschnitten der überlappenden Strecke sich „im Gleichschritt" verlängern oder verkürzen. Vom mechanischen Standpunkt wäre also für „reibungslose" Längenänderungen eine Zusammenlagerung der Stäbchen mit ihren Enden zu fordern, wie sie tatsächlich beim T. M.-Virus[4]), aber noch nie bei echten Faserkolloiden beobachtet worden ist. Am günstigsten wäre es, wenn diese Art der Zusammenlagerung ohne jene Vernetzung, die beim Zusammenbau von Fransenmizellen stattfindet, zu glatten Elementarfibrillen von der Dicke des einzelnen Eiweißstäbchens führte.

[4]) G. A. Kausche, E. Pfankuch und H. Ruska, Naturwiss. **27**, 292 (1939); G. Schramm und H. Müller, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **266**, 43 (1940).

Was die Mechanik fordert, scheint das Elektronenmikroskop zu bestätigen: Im Vakuum des Mikroskops eingetrocknete Myosinlösungen zeigen gleichmäßige Fäden von einer Dicke ~ 5 oder auch ~ 10 mμ, die tausende von mμ lang sind[5]). Die Fäden der Dicke ~ 10 mμ mögen durch Zusammenlagerung der Elementarfäden beim Eintrocknen entstanden sein. Daß der Q-Abschnitt des Muskels bis über die Auflösungsgrenze des lichtoptischen Mikroskops hinaus so leicht in Fibrillen aufspaltbar ist, dürfte auf diesem Aufbau aus getrennten und sehr langen Elementarfibrillen einer Dicke beruhen, die sich der unteren Grenze der kolloiden Dimensionen nähert. Dieser für Faserstoffe unübliche Bau aber erklärt die Reibungslosigkeit und Leichtigkeit der Längenänderungen des Muskels und findet in ihm gleichzeitig seinen Sinn.

Die Notwendigkeit der Längenänderung mehrerer Bauelemente „im Gleichschritt" beschränkt sich so auf die nebeneinanderliegenden Peptidketten des einzelnen Stäbchens. Das aber würde voraussetzen, daß das einzelne Stäbchen nicht ein zufälliges Kristallisat benachbarter Peptidketten, sondern ein Gebilde mit einem bestimmten, für alle Stäbchen einheitlichen Organisationsplan ist. Das heißt, eine Vorbedingung dieser Anschauung ist die Monodispersität der Myosinstäbchen. Ob sie vorliegt, kann mit der Ultrazentrifuge geprüft werden, weil das Myosin bei höherer Salzkonzentration leicht in Lösung geht. Diese Lösungen werden schon bei sehr geringem Strömungsgefälle doppelbrechend und sind also leicht in ihrem Zustand zu überwachen[6]).

Wird ein Extrakt mit einer Ionenstärke von 0,6 und einem p_H von etwa 7,5 aus einem vorher mit Ringer-Lösung durchspülten Kaninchenmuskel in der Phywe-Ultrazentrifuge nach G. Schramm[7]) einem Schwerefeld von etwa 125000 g ausgesetzt, so erscheinen vier Grenzzonen verschieden schnell sedimentierender Proteine. Zur Sichtbarmachung dieser Grenzzonen wird die Toepler'sche Schlierenmethode angewendet. Hierbei erscheinen die Zonen, in denen der größte Konzentrationsgradient herrscht, am dunkelsten. Wird die Sedimentationsgeschwindigkeit auf die Einheit der Kraft und auf Wasser von 20° als Lösungsmittel bezogen, so ergibt sich hieraus die Sedimentationskonstante $s_{20,}$ in 10^{-13} cm sec^{-1} dyn^{-1}. Für die Komponenten des Muskelextraktes ergeben sich als Mittel aus mehre-

[5]) M. v. Ardenne und H. H. Weber, Kolloid-Z. **97**, 322 (1941).
[6]) Siehe Fußnote 3.
[7]) G. Schramm, Kolloid-Z. **97**, 106 (1941).

Tabelle I. Sedimentationskonstanten der Eiweißstoffe aus Kaninchenmuskel in 10^{-13} cm sec^{-1} dyn^{-1}.

Komp. Nr.	Bezeichnung	Gesamtextrakt I		Gesamtextrakt II	Myogenfrakt.	Myosinfraktion 1. Umfällung		2. Umfällung	nach 14 Tagen		schwere Fraktion	leichte Frakt.	Mittel
	Versuch Nr. . .	100	101	105	104	102	103	107	113	114	110	111	
1	Myogen . . .	—*)	5,3	4,1	6,3								5,2
2	Myosin	—*)	—*)	(5,0)		5,6	6,2	6,4	5,8	—*)	6,5	6,7	6,2
3	Myogen A . . .	—*)	7,0	8,0	8,7								7,9
4	unbekannte Komponente	19,6	17,5	21,2									20
5	Myosin schwere Komponente					29,0	—*)	—*)			29,0		29,0
6	Wie Nr. 5 . .					30	—*)	—*)			—*)		30
7	Wie Nr. 5 . .								36,6	35,5			36
	Eiweißkonzentration Proz.	Myosin: 0,62		0,39		0,45	0,45	0,31	0,31		0,4—0,36	0,48	
		Myogen: 0,64		0,74	0,57	0,04	0,04	0,005	0,005		0 —0,04	0,004	
	Gesamtionenstärke in μ .	0,58		0,56	0,196	0,48	0,48	0,556	0,556		0,6	1,32	
	Drehzahl/Min. mal 10^{-3} . . .	40	42	42	41	35,5	40,7	42	30	30	31	32	
Strömungsdoppelbr.**)													
	Addition . . .	violett			keine	Indigo			—	—	violett	Purpur	
	Subtraktion . .	orange			keine	orange			—	—	gelb-orange	orange	
	p_H	7,6	7,6	7,8	7,3	7,5	7,5	7,1	—	—	—	7,1	

*) Komponente nachweisbar, aber nicht gemessen.
**) Es wird mit der Zocher-Pipette ceteris paribus die Additionsfarbe und Subtraktionsfarbe gegen Gips Rot I zwischen gekreuzten Nikols beobachtet.

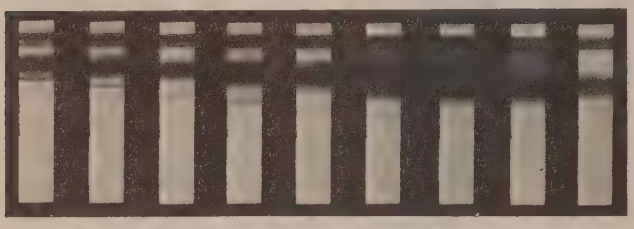


Fig. 3a. Sedimentationsaufnahme des Gesamtextraktes (Versuch Nr. 101). Zeitraum zwischen den Aufnahmen 5 Min. Auf den Reproduktionen ist die Auftrennung der oberen breiten Bande in 3 Einzelbanden mit $s_{20} = 5{,}2$, 6,2 und 7,9 kaum zu erkennen, nur auf den letzten Aufnahmen, die mit weit geöffneter Schlierenblende gemacht wurden, tritt deutlich die scharfe Bande mit $s_{20} = 6{,}2$ hervor.

Fig. 3b. Gesamtextrakt (Versuch Nr. 105). Die Aufnahmen wurden 5⁰ bzw. 60 Min. nach Erreichung einer konstanten Drehzahl von 42000/Min. mit weit geöffneter Schlierenblende gemacht. Es ist nur die Bande mit dem höchsten Konzentrationsgradienten sichtbar ($s_{20} = 6{,}2$).

ren Versuchen die Sedimentationskonstanten 5,2, 6,2, 7,9 und 20 (vgl. Tabelle I).

Die Komponenten mit $s_{20} = 5{,}2$ und $s_{20} = 7{,}9$ ergeben recht verwaschene Banden; es handelt sich offenbar um kugelförmige Moleküle von großer Diffusionsgeschwindigkeit (Fig. 3a). Die Banden mit $s_{20} = 6{,}2$ und $s_{20} = 20$ sind außerordentlich scharf und verbreitern sich während der Sedimentation nur wenig. Es sind also Teilchen von geringer Diffusionsgeschwindigkeit, d. h. beträchtlicher Größe. Wenn die Komponente 6,2 trotzdem so langsam sedimentiert, so muß ihre Gestalt sehr anisodiametrisch sein. Diese Komponente mit ihrer mächtigen, tiefschwarzen Bande umfaßt offenbar den Hauptanteil der anisodiametrischen Eiweißteilchen. Die sehr feine, scharfe Linie der Komponente $s_{20} = 20$ zeigt, daß diese Fraktion nur in sehr geringer Konzentration vorhanden ist (vgl. Fig. 3a). Die verschiedene Schärfe der Banden gestattet, die beiden lang-

samen Banden mit niedrigen Konzentrationsgradienten durch geeignete Einstellung der Schlierenblende unsichtbar zu machen, d. h. die Bande mit $s_{20} = 6{,}2$ optisch aus dem Extrakt zu isolieren (Fig. 3b).

Wird der Salzgehalt eines solchen Muskelextraktes durch Dialyse bei p_H 7,5 auf eine Ionenstärke von etwa 0,03 μ verdünnt, so erhält man statt der optischen eine chemische Isolierung der Komponenten und ihrer Banden: Das Myosin fällt aus und im Überstehenden bleiben die beiden verwaschenen Banden des Extraktes zurück (Fig. 4). Sie sind offenbar mit den von Deuticke[8]) im Muskelextrakt gefundenen Proteinkomponenten identisch, deren schneller sedimentierende nach Baranowski[9]) und Gralén[10]) zu einem Eiweißkörper der Myogenfraktion, dem Myogen A, gehört.

Fig. 4. Muskelextrakt nach Entfernung des Myosins (Myogen-Fraktion, Versuch Nr. 104). Zeitraum zwischen den Aufnahmen 5 Min. Drehzahl 41000/Min. Die scharfen Banden des Myosins mit $s_{20} = 6{,}2$ und 20 sind in dieser Lösung nicht mehr enthalten.

Das bei p_H 7,5 und einer Salzkonzentration von 0,05 μ ausgefallene Myosin zeigt nach Lösung in 0,48 m KCl ebenso wie der ursprüngliche Extrakt die mächtige Bande mit $s_{20} = 6{,}2$ — auch hier begleitet von einer rasch sedimentierenden Komponente mit einer sehr feinen und scharfen Bande, deren Sedimentationskonstante jetzt aber 29 beträgt. Daneben treten noch spurenweise Teilchen auf mit der Sedimentationskonstanten 30 (Fig. 5a und 5b).

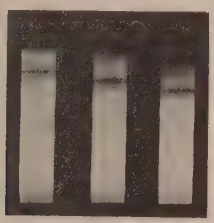


Fig. 5a

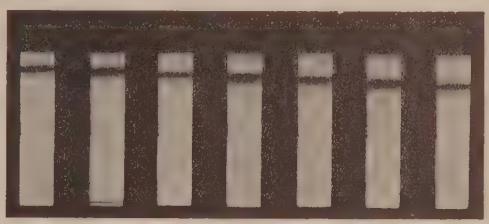


Fig. 5b

Fig. 5. Umgefälltes Myosin. a) Bei starker Abblendung zur Sichtbarmachung der Banden mit $s_{20} = 29$ und 30 (Versuch Nr. 102). 35500 U/Min. b) Mit weit geöffneter Schlierenblende. Es ist nur die Bande mit $s_{20} = 6{,}2$ sichtbar (Versuch Nr. 103). 40700 U/Min. Zeitraum zwischen den Aufnahmen jeweils 5 Min.

Wird eine solche Myosinlösung noch einmal umgefällt, so ändert sich an dem Bilde nichts. Die Sedimentationsgeschwindigkeit der langsamen Komponente bleibt auch bei wochenlangem Stehen unverändert. Dagegen wächst die Konstante der schnelleren Komponente in 14 Tagen auf $s_{20} = 36$. Gleichzeitig bilden sich hierbei noch größere Aggregate, die aber so schnell zu Boden sinken, daß ihre Sedimentationsgeschwindigkeit nicht gemessen werden konnte.

Myosinlösungen nach Edsall[11]) bzw. nach Weber[12]) sind also ein paucidisperses System, dessen Hauptanteil aus unveränderlichen Teilchen mit $s_{20} = 6{,}2$ besteht — in geringer Menge begleitet von einem Körper mit veränderlichem Teilchengewicht. Aber auch dieser schwere Eiweißkörper sedimentiert dennoch zu jedem Zeitpunkt so, als wäre er monodispers. Es ist anzunehmen, daß diese Begleitstoffe mit den Sedimentationskonstanten 29, 30 und 36 aus dem Eiweißkörper, der im frischen Extrakt mit der Konstanten 20 sedimentiert, entstanden sind.

Es läßt sich nämlich zeigen, daß der schnell sedimentierende Eiweißkörper der Myosinlösung nicht etwa bei der Umfällung aus dem langsam sedimentierenden Myosin entsteht: Werden die beiden Komponenten der Myosinlösung auf der präparativen Ultrazentrifuge 2 Stunden mit 30000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert, so enthält die oberste Flüssigkeitsschicht allein das Eiweiß mit der Sedimentationskonstanten 6,2

[8]) H. J. Deuticke, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **224**, 216 (1934).
[9]) T. Baranowski, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **260**, 43 (1939).
[10]) N. Gralén, Biochem. J. **33**, 1342 (1939).
[11]) J. T. Edsall, J. biol. Chemistry **89**, 289 (1930).
[12]) K. Meyer und H. H. Weber, Biochem. Z. **266**, 137 (1933).

Fig. 6. Myosin, leichte Fraktion (Versuch Nr. 111). 32000 U/Min. Zeitraum zwischen den Aufnahmen 5 Min. Eine schwere Komponente ist auch bei stärkster Abblendung nicht nachzuweisen.

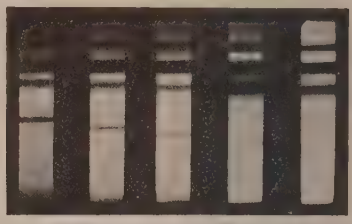


Fig. 7. Myosin, schwere Fraktion (Versuch Nr. 110). 31000 U/Min. Zeitraum zwischen den Aufnahmen 5 Min. Der Vergleich mit Fig. 5 a zeigt deutlich die Anreicherung der schweren Komponente mit $s_{20} = 29$ gegenüber der leichten Komponente.

(Fig. 6), während der mit 0,6 m KCl aufgenommene Bodensatz an der schweren Komponente stark angereichert ist (Fig. 7). Eine nochmalige Umfällung der auf diese Weise in reiner Form abgetrennten Komponente mit $s_{20} = 6{,}2$ ändert an ihrer Reinheit und Einheitlichkeit nichts mehr. Wie alle Myosinlösungen sind auch diese beiden Lösungen strömungsdoppelbrechend, doch ist die Doppelbrechung des langsam sedimentierenden Myosins geringer als die Strömungsdoppelbrechung der Lösung, in der die schwere Komponente angereichert ist (vgl. Tabelle I).

Daß selbst das leichte Myosin in der Ultrazentrifuge so ausgesprochene anisodiametrische Gestalt zeigt, ist ein neuer Beweis dafür, daß Myosin nicht als einzelne Peptidkette, sondern als stäbchenförmiges Bündel von Peptidketten in Lösung geht. Denn in der Ultrazentrifuge, in der kein Strömungsgefälle vorhanden ist, müßte eine einzelne Peptidkette in statistischer Verknäuelung, d. h. nicht wesentlich anisodiametrisch, vorliegen. Es wird so auf einem völlig unabhängigen Wege der Schluß bestätigt, der aus der Eigenart der Strömungsdoppelbrechung des Myosins schon früher gezogen wurde[13]).

Daß beide Eiweißkörper der Edsall-Weberschen Myosinlösungen aus Fadenmolekülbündeln bestehen, steht in Übereinstimmung mit den Folgerungen aus dem polarisationsoptischen Verhalten des Myosinfadens: Denn wenn der Myosinfaden sich unter geeigneten Bedingungen quantitativ wie ein idealer Stäbchen-Mischkörper verhält[14]), muß er und also auch die Myosinlösung, aus der er gesponnen wurde, ausschließlich Fadenmoleküle bzw. Fadenmolekülbündel enthalten.

Es bleibt die Frage offen, gibt es zwei Myosine, von denen das leichtere im gelösten Zustand in Form und Größe der Teilchen unveränderlich ist, während das schwerere Myosin in mehreren Aggregationsstufen von steigender Teilchengröße vorkommt? Oder gibt es nur ein Myosin? In letzterem Falle wären alle Zustandsformen der rascher sedimentierenden Komponente als Aggregationsstufen des Hauptteils des Myosins, der Einzelstäbchen (mit $s = 6{,}2$) zu betrachten. Die hohe Strömungsdoppelbrechung dieser Aggregationsstufen und die scharfe Ausbildung ihrer Grenzflächen beim Ultrazentrifugieren würde dafür sprechen, daß diese Aggregation mehr in der Längsrichtung als quer zur Stäbchenachse erfolgt. Die Verlängerung der Teilchen wirkt bei unveränderter Dicke verhältnismäßig wenig auf die Sedimentationsgeschwindigkeit. Außerdem könnten sich solche Fäden infolge ihrer außerordentlichen Länge auch noch in hoher Verdünnung gegenseitig berühren. Aus beiden Gründen würden die Grenzzonen schärfer erscheinen als der wahren Größenverteilung der Teilchen entspricht. Mit anderen Worten, wenn die einzelnen Eiweißstäbchen nicht zu Klumpen, sondern zu Fäden aggregieren, brauchen diese Fäden nicht so streng monodispers zu sein, wie es im ultrazentrifugalen Bilde erscheint. Das aber paßt besser zu einer Aggregation, die anscheinend als Alterungserscheinung irreversibel fortschreitet.

Betrachtet man so das schwere Myosin als Ketten aus den Eiweißstäbchen des leichten Myosins, so liegt es nahe, im schweren Myosin jene Fäden zu sehen, deren Vorhandensein das elektronenmikroskopische Bild enthüllt hat. So könnte ein Teilchen mit der Sedimentationskonstanten 36 bei einem Querdurchmesser von 4 mμ die elektronenmikroskopisch beobachtete Länge über 1000 mμ besitzen.

Da eine Umwandlung von leichtem Myosin in schweres Myosin bisher nicht beobachtet wurde, da ferner eine schwere Myosinkomponente bereits im Originalextrakt vorhanden ist, müßten

[13]) Siehe Fußnote 3.
[14]) H. H. Weber, z. B. Erg. Physiol. **36**, 109 (1939).

diese Fäden konsequenterweise als herausgelöste, aber nicht aufgelöste Elementarfibrillen des Muskels angesehen werden. Daß nur wenige dieser Elementarfibrillen sich nicht auflösen, wäre kein Beweis dafür, daß diese Elementarfibrillen von vornherein aus einem andersartigen Myosin bestehen. Diese Tatsache könnte z. B. die erste spurenweise Andeutung eines Deutticke-Effektes sein[15]).

Zunächst einfacher ist die Annahme, daß es von vornherein zwei Myosine gibt, von denen nur das schwerere aggregiert. Schließlich bleibt bei der komplexen Natur der Sedimentationsgeschwindigkeit auch noch die Möglichkeit offen, daß auch das schwere Myosin weniger im Gewicht als in der Gestalt seiner Teilchen veränderlich ist[16]).

Unabhängig von der Entscheidung dieser Alternative, die dem Experiment zugänglich ist, steht fest, daß das leichtere Myosin ($s_{20} = 6{,}2$) wahrhaft monodispers ist. Denn es ist nicht vorstellbar, daß sich 2 Systeme sich berührender Fäden auseinanderzentrifugieren lassen mit 2 Geschwindigkeiten, die völlig unabhängig voneinander sind.

Hiermit ist im leichten Myosin — d. h. im Hauptanteil des Myosins — zum erstenmal ein Struktureiweiß gefunden, dessen Teilchen wie bei so vielen löslichen Proteinen gleiche Größe, Gestalt und also wahrscheinlich auch gleiche Organisation besitzen. Es ist wahrscheinlich, daß diese Organisation jene konstruktiven Elemente enthält, auf denen die Besonderheit der elastischen und kontraktilen Eigenschaften lebender Myosinstrukturen beruht.

Zusammenfassung.

1. Es wird gezeigt, daß die besonderen elastischen und kontraktilen Eigenschaften des Muskels besondere Konstruktionsprinzipien beim Aufbau der einzelnen Myosinstäbchen und bei ihrem Zusammenbau zu Fibrillen verlangen. Die Art dieses Bauplanes wird erörtert.

2. Es wird gezeigt, daß ein Kaninchen-Muskelextrakt nach Meyer-Weber, der 70—75 Proz. des Muskeleiweißes enthält, aus 4 einheitlich sedimentierenden Protein-Komponenten besteht.

3. Von diesen Komponenten sind 2 schon länger bekannt, besitzen etwa kugelförmige Teilchen und gehören zu den löslichen Muskelproteinen.

4. Die beiden anderen Komponenten finden sich in Edsall-Weber'schen gereinigten Myosinlösungen wieder, sie bestehen beide aus stark anisodiametrischen Teilchen. Sie sind mit der präparativen Ultrazentrifuge zu trennen; die Lösungen beider Komponenten sind strömungsdoppelbrechend. Beide Komponenten sind also Myosin.

5. Nach der Abtrennung der schwereren Komponente bleibt das leichte Myosin rein; eine schwere Komponente tritt auch dann nicht wieder auf, wenn das gereinigte leichte Myosin noch einmal umgefällt wird.

6. Die Sedimentationskonstante des leichten Myosins beträgt $s_{20} = 6$ und bleibt vom frischen Extrakt durch alle Umfällungen hindurch unverändert Die schwere Myosinkomponente nimmt im Laufe der Zeit und der präparativen Maßnahmen in ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit zu. In jedem Stadium aber ist auch hier die Sedimentationsgeschwindigkeit einheitlich. Beobachtete Sedimentationsgeschwindigkeiten: $s_{20} = 20$, $s_{20} = 29$, $s_{20} = 30$ und $s_{20} = 36$.

7. Mindestens für das leichte Myosin bedeutet die einheitliche Sedimentationsgeschwindigkeit auch wahre Monodispersität.

Das Myosin ist damit der erste Faserstoff, von dem gezeigt worden ist, daß er mindestens dem Hauptteil nach aus unter sich streng gleichartigen Stäbchen oder stäbchenähnlichen Gebilden aufgebaut ist.

* * *

Zum Schluß ist es uns eine angenehme Pflicht, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für eine Reisebeihilfe für einen von uns (Weber) und für die technische Assistentin (C. Wilberg) zu danken.

[15]) H. J. Deuticke und Mitarbeiter, Pflügers Arch. **224**, 1, 44 (1930); Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **210**, 97 (1923); K. Meyer und H. H. Weber, Biochem. Z. **266**, 137 (1933) und F. Kamp, ebenda **307**, 226 (1941). Hier handelt es sich um einen spezifischen Effekt, im übrigen aber treten Aggregationserscheinungen und Löslichkeitsminderungen des Myosins sehr leicht auf, ohne daß die Gründe recht übersehbar wären, z. B. beim Filtrieren.

[16]) Vgl. dazu die Knickungen, Verknäuelungen und Zusammenlagerungen der Myosinfäden auf den elektronenmikroskopischen Bildern von M. v. Ardenne und H. H. Weber.

Aus dem Wissenschaftlichen Laboratorium für Kunstseide der I. G. Farbenindustrie A. G., Werk Wolfen, Kreis Bitterfeld.

Das Verhalten von Zellulosefasern im Elektronenmikroskop.

Von Adolf Hamann (Wolfen, Kr. Bitterfeld).

(Eingegangen am 4. Juni 1942)

Die ersten elektronenmikroskopischen Untersuchungen von H. Ruska[1]) an natürlichen und künstlichen Zellulosefasern führten zu dem Schluß, daß derartige Fasern einen schaumartigen Aufbau ohne Orientierung zur Faserachse besitzen. Dieser Befund war nach den Anschauungen, die sich auf Grund lichtoptischer und röntgenographischer Untersuchungen gebildet hatten, nicht zu erwarten. Daher wurden die Untersuchungen an vielen Stellen, so auch bei uns, nachgearbeitet. Von mehreren Autoren[2, 3, 4]) wurde bereits die Meinung geäußert, daß die schaumartigen Strukturen nicht ursprüngliche Gebilde sind, sondern erst unter der Einwirkung der Elektronenbestrahlung entstehen. So zeigte Mahl an einer aus 3 Bildern bestehenden Serie an verhältnismäßig dicken und daher nicht durchstrahlbaren Kapillarfäden von Kupferseide, die mit steigender Bestrahlungsintensität aufgenommen waren, daß die Konturen der Fäden während der Bestrahlung charakteristische Formänderungen erfahren, die eine entsprechende Veränderung im Fadeninnern wahrscheinlich machen.

Unsere eigenen Untersuchungen, die im Siemens-Laboratorium für Übermikroskopie durchgeführt wurden, führten zu demselben Ergebnis, nämlich daß die Schaumstrukturen der Zellulosefasern nicht primärer, sondern sekundärer Natur sind. Da das Ergebnis unter Benutzung eines bisher nicht beschriebenen Präparierverfahrens gewonnen wurde und da darüber hinaus der Gang der Untersuchung manche andere, bisher ungeklärte oder von anderer Seite angeschnittene Frage berührte, erscheint es berechtigt, über diese Arbeiten zu berichten.

1. Herstellung der Präparate.

Für eine erfolgreiche elektronenmikroskopische Untersuchung ist die Verwendung geeigneter Präparate eine wesentliche Voraussetzung[5, 6]).

Für unseren Zweck mußten die Faserpräparate eine besonders hohe Feinheit haben; sie mußten schon mit geringer Intensität durchstrahlbar sein, so daß die Fasern und vor allem ihr Inneres in einem Zustand zur Untersuchung kamen, der sich bestimmt noch nicht von dem ursprünglichen durch eine Strahlenschädigung unterschied. Außerdem stellten wir uns die Aufgabe, die Objekte so herzustellen, daß man von dem zur Untersuchung hergerichteten Fäserchen noch mit Bestimmtheit aussagen konnte, von welchem Fadenstück und von welchem Teil des Fadens, Rinde oder Mark, es stammt.

Für die Herrichtung der Präparate benützen wir einen elektrisch angetriebenen Scheuerapparat mit einer gläsernen Riffelwalze, wie er in Fig. 1 dargestellt ist. Er entspricht den in der Kunstseiden-Industrie üblichen Apparaten zur Bestimmung des Abspleiß- und Scheuerwiderstandes.

Fig. 1. Scheuerapparat zur Herstellung der Faserpräparate.

Für unseren Zweck werden damit an Fäden normalen Durchmessers feinste Abspleißungen erzeugt und diese zur Untersuchung gebracht. Hierzu wird ein Kapillarfaden über die Walze gelegt und unter schwacher Belastung, gegebenenfalls nach Befeuchtung mit Wasser oder stärkeren Quellmitteln, einer bestimmten Zahl von Scheuerumdrehungen ausgesetzt (Zählwerk im Bild links). Ermittelt man von vornherein einmal die Zahl der Umdrehungen, die für das Durch-

[1]) H. Ruska, Kolloid-Z. **92**, 276 (1940).
[2]) E. Kuhn, Melliands Textilber. **22**, 249 (1941).
[3]) H. Mahl, Kolloid-Z. **96**, 7 (1941).
[4]) E. Franz, L. Wallner und E. Schiebold, Kolloid-Z. **97**, 36 (1941).
[5]) W. Wergin, Kolloid-Z. **98**, 131 (1942) und Diskussionsbemerkungen.
[6]) L. Wallner, Melliands Textilber. **23**, 158 (1942).

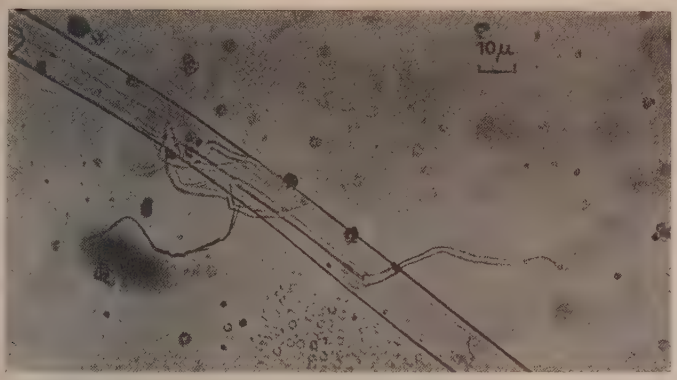


Fig. 2a. Wenig gescheuerte Faser. Abspleissungen aus der äußeren Rindenschicht. Lichtmikroskopisch 500fach.

Fig. 2b. Stärker gescheuerte Faser. Lichtmikroskopisch 350fach.

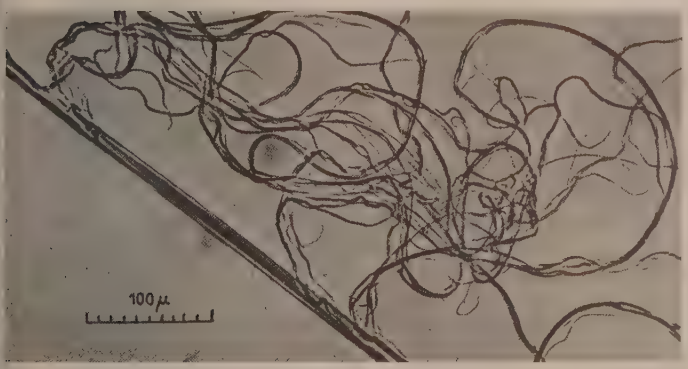


Fig. 2c. Bis in die Markzone gescheuerte Faser. Lichtmikroskopisch 180fach.

scheuern einer bestimmten Fasersorte bis zum Bruch erforderlich ist, so erhält man die Möglichkeit roh abzuschätzen, bis zu welcher Zone des Fadens — Rinde oder Mark — der Scheuerprozeß geführt wird. Nach der Scheuerung wird der Faden unter dem Lichtmikroskop besichtigt; dabei werden diejenigen Abspleißungen herausgesucht, die für die elektronenmikroskopische Untersuchung fein genug sind, und ihre bauliche Beziehung zum Gesamtfaden festgestellt. Die Fig. 2a bis 2c zeigen solche gescheuerten Fäden und lassen erkennen, daß die feinsten Abspleißfäserchen einen weit unter 1 μ liegenden Durchmesser besitzen.

Wenn der Kapillarfaden in dieser Weise vorbereitet ist, wird die ausgesuchte Stelle mit einer Spur Cohesan auf die unbefilmte Objektblende[7]) geklebt. Diese Arbeit erfolgt unter einem etwa 40fach vergrößernden binokularen Lupenmikroskop und macht nach einiger Übung keine besonderen Schwierigkeiten.

Fig. 3. Zur Untersuchung hergerichtete Blende.

[7]) Statt der üblicherweise benutzten Objektblenden aus Platin lassen sich mit Vorteil Blenden aus Hydronalium mit 0,2 mm Bohrung verwenden; sie können mit Azeton oder feinem Schmirgelpapier von Klebstoffresten gereinigt werden und vertragen notfalls auch eine kurze Behandlung mit Chromschwefelsäure.

2. Wirkung der Elektronenstrahlen.

Um das Verhalten der Zellulosefasern im Elektronenstrahl kennenzulernen, wurden die Präparate anfänglich ganz schwach bestrahlt; dann wurde die Intensität langsam bis zum Maximum gesteigert. Durch diese Art des Vorgehens war es möglich, die von anderer Seite teils vermuteten, teils beschriebenen Veränderungen der Faser in allen Einzelheiten des Ablaufs zu beobachten. Es zeigte sich dabei, daß die Veränderungen der Faser so heftig verlaufen, daß neben der photographischen Aufnahme das kinematographische Festhalten des ganzen Vorganges am Platze war.

Da bisher noch nicht über kinematographische Aufnahmen am Elektronenmikroskop berichtet wurde, seien hier die photographischen Daten angegeben. Die in das Siemens-Übermikroskop eingebaute Einrichtung zum Photographieren erlaubt nur die Benutzung von Platten. Deshalb wurde für die kinematographischen Aufnahmen das Fluoreszenzbild des Leuchtschirms durch die Beobachtungsscheibe hindurch photographiert. Als Camera wurde die Agfa-Movex mit Symmetar 1:1,5, f = 2 cm, für 16 mm Schmalfilm verwandt; als photographisches Material diente der Agfa-Isopan ISS-Umkehrfilm. Der Verschluß der Camera lief mit 8 Belichtungen pro Sekunde. Da die Naheinstellung des Objektivs nur bis 60 cm regulierbar ist, wurde mit einer Vorsatzlinse von 20 cm Brennweite gearbeitet. Die Camera wurde mit $2^1/_2$ cm Abstand vor dem vorderen Beobachtungsfenster aufgestellt; dieser Abstand entspricht gerade einer Entfernung Leuchtschirm-Objektiv von 20 cm und führte zu einer guten Ausnutzung des Bildformats.

Für andere Aufnahmen im Normal-Kineformat erwies sich der für Fluoreszenzlicht sensibilisierte Agfa-Fluorapid-Film als besonders geeignet.

Die Vergrößerung mußte dabei, um eine zur Scharfeinstellung bzw. photographischen Aufnahme ausreichende Helligkeit des Bildes zu bekommen, gering gehalten werden. Im einzelnen ist der Ablauf der Veränderung wie folgt:

Anfangs, bei geringer Bestrahlungsintensität, zeigt die Faser ihre ursprüngliche, unveränderte Form; sie ist in den dünnen Teilen durchscheinend und stellt ein im wesentlichen strukturloses Gebilde dar; stellenweise sind mehr oder weniger feine Fibrillen zu sehen. Steigert man die Intensität, so beginnt die Faser, deren Enden ja festliegen, sich infolge einer Längung durchzukrümmen und langsame Bewegungen auszuführen. Allmählich werden diese Bewegungen sehr heftig. Dabei vergrößert sich gleichzeitig der Durchmesser, und die Faser bläht sich stark auf. Man sieht in der Faser Blasen entstehen, die häufig wieder zusammenfallen und sich neu bilden, so daß der Eindruck entsteht, das Faserinnere befinde sich im Zustand

Fig. 4a. Abspleißfäserchen mit Nebenabspleißungen im ursprünglichen Zustand; weitgehend durchscheinend, noch keine wahrnehmbare Wirkung der Elektronenstrahlen.

des Siedens. Nach einiger Zeit läßt die Heftigkeit der Erscheinung nach. Das lebhafte Aufbäumen und Aufblähen wird ruhiger und kommt schließlich zum Stillstand. Dann beginnt eine langsam verlaufende Schrumpfung. Die Blasen fallen zusammen, und das Faservolumen vermindert sich. Hierdurch wird der Faden gespannt, so daß er in diesem Zustande häufig zerreißt. Die Blasen werden in die Länge gezogen, und ihre Wände werden dünner. Schließlich kommt es zu einer vollkommenen Auflösung des Faserverbandes. Der Faserrand nimmt infolge weitgehender Verflüchtigung der Substanz eine unregelmäßig gezähnte Form an, und auch im Innern entstehen Risse. Die Faser wird immer dünner und durchscheinender, so daß endlich gar kein Zusammenhang mehr zwischen den einzelnen Teilen besteht und der Fasercharakter verlorengeht.

Von einer Wiedergabe der kinematographischen Aufnahmen muß abgesehen werden, weil sich die anfangs naturgemäß lichtschwachen Bilder zur Reproduktion nicht eignen. Eine Vorstellung von der Wirkung der Elektronenstrahlen soll daher die folgende Bilderserie Fig. 4a—4e vermitteln, bei der eine XT-Faser, Titer 2,75, untersucht und einzelne Stadien des oben geschilderten Geschehens photographiert wurden. Sämtliche 5 Bilder sind mit etwa 1000facher Vergrößerung

Fig. 4b. Nach kurzfristiger Bestrahlung: Unter Aufblähen und heftigen Bewegungen entstehen Blasen.

Fig. 4c. Nochmals kurzfristig, aber intensiver bestrahlt: Die Veränderungen gehen weiter, die Bewegungen werden ruhiger.

Fig. 4d. Gesteigerte Intensität: Die Fäserchen schrumpfen, und die Blasen fallen zusammen.

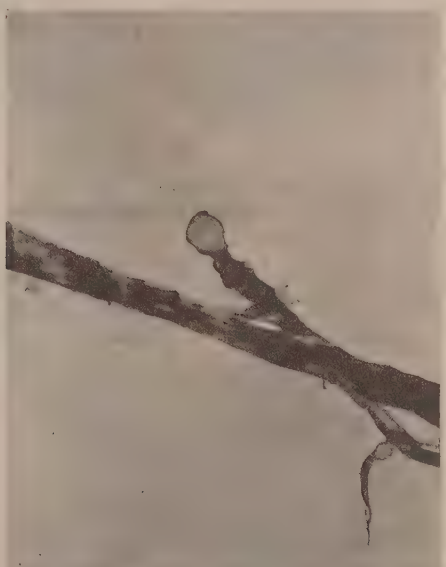


Fig. 4e. Sehr intensive Bestrahlung führt unter Verlust an Länge und Durchmesser zu ganz starker Schrumpfung; die Blasenwände verschwinden.

Alle Aufnahmen dieser Serie im gleichen Maßstab; elektronenoptische Vergrößerung etwa 1000fach.

aufgenommen und wiedergegeben. Die Unterschiede in der Bestrahlungsintensität sind dabei durch Variation der Belichtungszeiten ausgeglichen, so daß die Bilder ungefähr gleich hell erscheinen. Die Elektronenstrahlspannung betrug, ebenso wie bei der später wiedergegebenen 2. Bilderserie, etwa 75 kV.

In Fig. 4a sehen wir zunächst ein Abspleißfäserchen mit seinen Nebenabspleißungen, so wie es sich bei schwächster Bestrahlung darbietet. Die dünneren Gebilde sind weitgehend durchscheinend, eine Einwirkung der Elektronenstrahlen ist noch nicht eingetreten; wir haben den ursprünglichen Zustand vor uns. Bei 4b wurde kurzfristig stark bestrahlt. Das Fäserchen verdickt sich dabei; das ganze Präparat bläht sich auf und durchsetzt sich stark mit Blasen. Bei 4c wurde nochmals kurzfristig, aber intensiver bestrahlt. Die Änderungen schreiten weiter fort, die Aufblähungen werden schon rückläufig. Bei 4d wurde mit steigender Intensität bestrahlt. Die Fäserchen schrumpfen stark, und die Blasen fallen zusammen. Bei 4e schließlich wurde sehr intensiv weiter bestrahlt. Die Fäserchen sind nun auf ein kleines Volumen zusammengefallen und haben offenbar den größten Teil ihrer Substanz verloren. Die Blasenwände sind fast verschwunden.

Auch an Mikrotomschnitten, die nach der von Ruska beschriebenen Arbeitsweise hergestellt und auf befilmte Blenden aufgetrocknet waren, wurden derartige Untersuchungsreihen durchgeführt. Die folgende zweite Bilderserie, die elektronenoptisch mit etwa 1000facher Vergrößerung aufgenommen und auf 2000fach lichtoptisch nachvergrößert wurde, gibt ein Beispiel davon. Fig. 5a zeigt ein Querschnitt-Trümmerstück einer XT-Faser, ET 2,75, nach mäßiger Bestrahlung. Wahrscheinlich ist schon eine geringfügige Veränderung gegenüber dem ursprünglichen Zustand eingetreten, worauf die vereinzelt sichtbaren hellen Stellen hindeuten. Fig. 5b geht hieraus durch kurze intensive Bestrahlung hervor. Die hellen Stellen haben sich stark vermehrt. Eine Fortsetzung der Intensitätssteigerung führte dann zu dem in Fig. 5c gezeigten Zustand, der eine noch weitere Schädigung erkennen läßt.

Fig. 5a

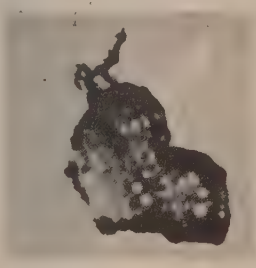


Fig. 5b

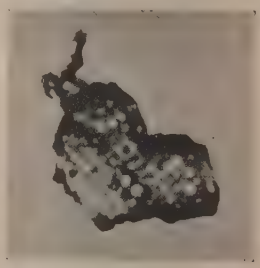


Fig. 5c

Querschnitt-Trümmerstück nach verschieden langer Bestrahlung.

Gegenüber der ersten Bilderserie sind zwei Unterschiede festzustellen. Einmal sind während der Veränderung im Innern, abgesehen von einer geringen Schrumpfung, die Konturen erhalten geblieben. Das scheint bei dünnen Querschnitten, bei denen die auftreibenden Gase leicht entweichen können, immer der Fall zu sein. Ferner ist es nicht zur Bildung einer schaumartigen Struktur gekommen, sondern es sind nur einzelne Blasen entstanden; auch dies scheint mit der geringen Dicke des Präparates zusammenzuhängen, da auch an sehr dünnen bändchenförmigen Abspleißfädchen eine solche Blasenanordnung bemerkt wurde. Infolgedessen war auch keine Volumenzunahme durch Aufblähen festzustellen, wohl aber eine erhebliche Substanzverflüchtigung bei stärkster Bestrahlung.

Zur experimentellen Beantwortung der Frage, ob die Schaumstrukturen auch durch unmittelbare Erhitzung zustande kommen können, wurden mit gescheuerten Fasern (XT, ET 3,75) ausgerüstete Blenden bei einem Vakuum von 12 bis 15 mm in Glasröhrchen im Sandbad eine oder zwei Minuten auf 450, 500 und 600° C erhitzt. Dann wurden die Präparate in gewohnter Weise bei etwa 3000facher Vergrößerung und zunächst schwacher Bestrahlungsintensität im Übermikroskop untersucht.

Hierbei zeigte keine der erhitzten Fasern Blasenstruktur. Bei zunehmender Strahlungsintensität nahmen die auf 450 und 500° erhitzten Fasern unter den bekannten Begleiterscheinungen Blasenstruktur an. Die auf 600° erhitzten Fasern ließen auch bei stärkster Bestrahlung keine Bla-

senstruktur erkennen. Es war lediglich ein allgemeines Schwinden zu beobachten, das vielleicht etwas langsamer vor sich ging als bei unbehandelter Faser.

Die angegebenen Temperaturen können selbstverständlich nur als rohe Abgrenzungen angesehen werden, da die Geschwindigkeit der Wärmeaufnahme im Vakuum ziemlich unkontrollierbar ist. Auf jeden Fall scheint es nicht möglich zu sein, die Strukturveränderung, die die Zellulosefaser im Übermikroskop erleidet, außerhalb desselben durch Erhitzen zu erzeugen.

Form und Anordnung der Blasen, die das Schaumgerüst der geschädigten Fasern aufbauen, sind keine Materialeigenschaften, die etwa von der Herkunft der Zellulose oder dem Herstellungsprozeß des Fadens abhängig wären, da sie bei allen Faserarten, gleichgültig wie sie hergestellt wurden, auftreten. Sie werden ausschließlich bestimmt durch die Geschwindigkeit der Intensitätssteigerung und die Dauer der Strahleneinwirkung. Bestrahlt man einen Faden zunächst schwach und steigert die Intensität so langsam, daß das Maximum erst nach etwa 30 Min. erreicht wird, dann lassen sich ebenfalls Konturenverlagerungen und Hohlraumbildungen erkennen. Die Hohlräume sind aber kleiner und weniger zahlreich als bei schneller Intensitätssteigerung und haben keine scharfen Abgrenzungen. Die Gasentwicklung, die ihre Bildung verursacht, erfolgt offenbar so träge, daß die Gase genügend Abzugswege finden können, ohne sich explosionsartig Raum schaffen zu müssen. Die Verhältnisse ähneln also denen an sehr dünnen Präparaten (vgl. Fig. 5a—c), worauf auch das Aussehen der elektronenmikroskopischen Bilder schließen läßt.

Schließlich wurde noch der Einfluß der Bestrahlung auf die Festigkeitseigenschaften geprüft und dabei festgestellt, daß die mechanische Widerstandsfähigkeit des Zellulosefadens bei der chemischen Veränderung durch die Elektronenstrahlen vollkommen verlorengeht. Zu diesem Zweck wurden normale Fasern (XT, 3,75) mit einer Stapellänge von 90 mm ohne Verwendung von Objektivblenden so auf die Blendenfassung geklebt, daß etwa die Fasermitte in den Strahlengang zu liegen kam, während die Faserenden um den Hals der Fassung geschlungen und befestigt wurden. Die Fasern wurden nun vorsichtig bestrahlt, so daß auf dem Bild des Fluoreszenzschirms bei schwacher Vergrößerung gerade eine Verlagerung der Konturen bemerkbar wurde. Hiernach wurde die Fassung in Azeton gebracht, um den Klebstoff wegzulösen und eine Festigkeitsbestimmung auszuführen. Es zeigte sich aber, daß die Fasern an den Bestrahlungsstellen so spröde waren, daß sie zerbrachen und eine Untersuchung z. B. am Schopper'schen Reißapparat überhaupt unmöglich war. Der Versuch wurde wiederholt, wobei die Bestrahlung jedoch schon vor einer Konturenveränderung abgebrochen wurde. Auch in diesem Fall zerbrachen die Fasern beim Loslösen von den Fassungen. Hieraus folgt, daß die Strukturänderung in den Fasern schon einsetzt, bevor äußere Anzeichen dies erkennen lassen, und daß sie nicht nur physikalisch bedingt ist, da Verlust von eingeschlossenen Gasen und von Quellwasser keine so weitgehende Festigkeitsverminderung zur Folge haben kann.

Für die Vorgänge, die in der Faser stattfinden und die zum Entstehen der schaumartigen Struktur führen, wurde verschiedentlich nach Deutungen gesucht. Mahl vermutete als Ursache das Verdampfen von leicht flüchtigen Bestandteilen und teilweise vielleicht auch direkte Verbrennungen. Ebenso nahmen Franz, Wallner und Schiebold als Erklärung an, daß Gaseinschlüsse oder Einschlüsse eines noch in der Faser vorhandenen Quellmittels zusammen mit der Wirkung des Evakuierens die Bildung der Blasen veranlassen können. Diese Mutmaßungen sind nicht sehr wahrscheinlich, da die Blasenbildung bei starker Bestrahlung auch nach längerem Stehenlassen des Präparates im Hochvakuum und nach Bestrahlen mit einer zunächst mäßigen Intensität sehr heftig vor sich geht. Auch sprechen die Verfärbungen und Schwunderscheinungen für eine chemische Veränderung.

Neuerdings neigt auch Wallner[6]) dieser Annahme zu. Er nimmt an, daß sich die Faserpräparate unter Einwirkung der absorbierten Strahlungsenergie erwärmen und unter Abspaltung von Kohlendioxyd und Wasserdampf verkohlen. Diese Erklärung kann aus stöchiometrischen Gründen den chemischen Vorgang noch nicht ausreichend beschreiben, zumal da das schaumige, verfärbte Faserskelett sich, wie die Beobachtung lehrt, schließlich bei stärkster Bestrahlung weitgehend verflüchtigen läßt und daher sicher nur in untergeordnetem Maße aus Kohlenstoff besteht. Im Gegensatz zu den bisherigen Autoren scheint uns eine verwickeltere chemische Reaktion vorzuliegen. Wir erinnern an die Untersuchung von Pictet und Sarasin[8]), die Baumwolle unter vermindertem Druck erhitzten und neben gasförmigen und wässerigen Destillationsprodukten die Hauptmenge der Zellulose als Lävoglukosan wiederfanden.

[8]) A. Pictet und J. Sarasin, Helv. Chim. Acta 1, 87 (1918).

Zusammenfassung.

Für die elektronenmikroskopische Beobachtung von Fasern aus künstlicher Hydratzellulose wurde ein neues Präparierverfahren ausgearbeitet, mit Hilfe dessen es gelingt, bei größter Feinheit des Präparates auszusagen, von welcher Stelle des Gesamtfadens das bestrahlte Faserstück stammt.

Die von Ruska beschriebenen Schaumstrukturen sind faserfremde Sekundärgebilde. Sie sind als Folge der Elektronenbestrahlung aufzufassen und bilden sich unter lebhaften Bewegungen und starkem Aufblähen der Faser. Der Aufbau des Schaumgerüstes hat keine Beziehung zur Herstellung und Herkunft der Faser, sondern ist von der Form des Präparats und den Bedingungen der Elektroneneinwirkung abhängig. Die Schaumstrukturen stellen auch keinen Endzustand dar; vielmehr tritt bei Fortsetzung der Bestrahlung unter weitgehendem Substanzverlust eine vollkommene Auflösung des Fasergefüges ein.

Die mechanische Widerstandsfähigkeit des Zellulosefadens geht bei der Elektronenbestrahlung, selbst bei vorsichtiger Dosierung vollkommen verloren. Ohne Elektronenbestrahlung, lediglich durch Erhitzen im Vakuum, ließen sich die charakteristischen Sekundärstrukturen nicht erzeugen. Die Veränderung der Zellulose im Elektronenstrahl wird als chemische Reaktion, die zu Lävoglukosan führt, gedeutet. Die Vorgänge wurden übermikroskopisch beobachtet und photographisch und teilweise kinematographisch festgehalten.

* * *

Dem Leiter des hiesigen Wissenschaftlichen Laboratoriums für Kunstseide, Herrn Dr. E. Hubert, sowie dem Leiter der hiesigen Wissenschaftlich Photochemischen Laboratorien, Herrn Prof. Dr. J. Eggert, bin ich für ihr stets förderndes Interesse an dieser Arbeit zu besonderem Dank verpflichtet.

Über die Abhängigkeit der Doppelbrechung von der Orientierung protoplasmatischer Leptonen durch Zentrifugieren.

Von Hans H. Pfeiffer (Bremen). (Eingegangen am 15. Mai 1942)

I. Versuchsziele

Es sind verschiedene Gründe, welche zur Anstellung und später Ausgestaltung der nachfolgend zu behandelnden Versuche geführt haben, und verschiedene Ziele, welche damit verfolgt werden sollten.

Eine entscheidende Voraussetzung für die Anwendbarkeit polarisationsoptischer Untersuchungsverfahren auf das Protoplasma bleibt eine bestimmte Orientierung der Leptonen (Feinbauteile). Bei deren ungeordnetem Verband resultiert für alle Richtungen ein annähernd gleicher Mittelwert des Brechungskoeffizienten (statistische Isotropie). Die Leptonen in solchem Material können aber, wie empirisch gezeigt worden ist, durch die mannigfachsten Versuchseingriffe[1]) soweit „ausgerichtet" werden, daß die anisodiametrischen (anisodimensionalen) Bauelemente einen polarisationsmikroskopischen Effekt ergeben. Nachdem es gelungen ist, beispielsweise durch eine Strömungsbewegung des Protoplasmas durch eine Kapillare[2]) ebenso wie später durch Ausspannen von Protoplasmalamellen in einem Dehnungsrahmen[3]) Doppelbrechung nachzuweisen und zu messen, und nachdem durch mikrurgische Versuche an gedehnten Chromosomen von *Chironomus*-Speicheldrüsen und neuerdings an mikrurgisch deformierten Chromatinabschnitten von *Chara*-Spermatozoiden eine Verstärkung der Intensität der Doppelbrechung (Erhöhung der Gangunterschiede) gefunden worden ist[4]), müssen sich die Fragen nach der Orientierbarkeit der protoplasmatischen Leptonen und nach dem experimentell gefundenen bzw. erzielbaren Ordnungsgrade sowie die Frage einer Relation zwischen Orientierungsgrad und Stärke des anisotropen Effektes zu ehestmöglicher Analyse aufdrängen.

Um so dringlicher ist diese Aufgabe dadurch geworden, daß Caspersson[5]) aus Messungen der Ultraviolettabsorption (des Ultraviolettdichrois-

[1]) Vgl. die übersichtliche Zusammenfassung bei W. J. Schmidt, Verh. Dtsch. Zool. Ges. **41**, 303, 347 (1939); Erg. Physiol. **44**, 27, 74 (1942).

[2]) H. H. Pfeiffer, Proc. 6. intern. Bot. Congr. Amsterdam (1935), 43; Nature **138**, 1054 (1936); Physics **7**, 302 (1936); Fujii Jubil. Vol. (Tokyo 1937), 701; Verh. Dtsch. Zool. Ges. **39**, 106 (1937).

[3]) H. H. Pfeiffer, Z. Altersforschg. **3**, 57 (1941); Verh.-Ber. Kolloid-Ges. **13**, 355 (1941); Ber. Dtsch. bot. Ges. **59**, 288 (1941).

[4]) H. H. Pfeiffer, Chromosoma **1**, 526 (1940); **2**, 77 (1941); **2**, im Druck (1942).

[5]) T. Caspersson, Chromosoma **1**, 605; **2**, 247 (1941).

mus) an Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila* gefolgert hat, daß eine nennenswerte einheitliche Orientierung der (für die Doppelbrechung verantwortlich zu machenden) Thymonukleinsäuremolekeln in den Chromomeren nicht anzunehmen ist. Die Nukleinsäurekonzentrationen liegen hier, wie man nach seinen Messungen annehmen muß, bei der Größenordnung von 5 bis 10 Proz.; dann aber sollte ein Chromomer in einer Schicht von 10 μ Dicke einen Gangunterschied Γ von der Größenordnung von 60 mμ erwarten lassen. Wenn Schmidt[6]) für die ruhenden (nicht gedehnten) Chromosomen Γ-Werte um 2 mμ angibt (bei denen freilich eine geringe Reduktion durch Kompensation durch schwache positive Doppelbrechung der Proteingrundlage zu berücksichtigen bleibt), und wenn eigene Messungen Werte der Gangunterschiede in derselben Größenordnung ergeben haben, so liegt allerdings ein äußerst geringer Orientierungsgrad vor, dessen polarisationsoptische Erkennbarkeit uns die ungewöhnliche Empfindlichkeit der Nachweismethode in hellstem Lichte zeigt (s. S. 262).

Immerhin scheint es bei der kaum ganz einwandfreien Vergleichbarkeit der polarisationsmikroskopischen und der absorptionsdichroitischen Methode angebracht, das sich schon abzeichnende Ziel der Analyse quantitativer Auswertbarkeit der Intensität der Doppelbrechung in Beziehung zur Orientierung der Leptonen mit ganzer Anstrengung zu verfolgen.

Diese Bemühungen werden nun dadurch erleichtert und unterstützt, daß in jüngster Zeit auch in der Kolloidik die Doppelbrechung zur quantitativen Erforschung des Orientierungsgrades herangezogen worden ist. Mag auch der von Preston[7]) in dieser Richtung unternommene Versuch noch von zu einfachen Voraussetzungen ausgegangen sein, so sind doch, nachdem ein umfangreiches Material über den Verlauf der Quellungsanisotropie und der Änderung des Röntgendiagramms beim Dehnen isotroper Zellulosefäden zusammengetragen worden ist[8]), vor allem durch O. Kratky, P. H. Hermans, P. Platzek und weitere Mitarbeiter der beiden erstgenannten Autoren Beziehungen eines „Orientierungsfaktors" f zur Doppelbrechung gequollener und entquollener Zellulosefäden geprüft worden[9]). Ferner sei hier auf die von Müller[10]) untersuchten wechselnden Ordnungszustände oder auf den Nachweis weitgehend linearer Abhängigkeit der Anisotropie vom Dehnungsgrade $\Delta l/l$ bei Vinyliteharzen durch Farwell[10]) hingewiesen.

Zusammenfassend ergibt sich als wichtigstes der Versuchsziele die Frage, in welcher Weise der als Gangunterschied oder als Doppelbrechung gemessene optisch-anisotrope Effekt vom Grade der angewandten mechanischen Deformation und dem dabei zu erwartenden Orientierungsgrade der Leptonen abhängt. Insbesondere gilt es zu prüfen, von welchen Faktoren — Quellungs- und Viskositätszustand, Orientierbarkeit der Leptonen, Altern o. a. — die Höhe der Gangunterschiede bestimmt wird. Zur Vereinfachung wird hier vorläufig nur die polarisationsmikroskopisch bestimmte optische Anisotropie des Versuchsmaterials behandelt und werden beugungspolarisatorische Bestimmungen und erst recht photoelektrische Durchlässigkeitsmessungen wegen noch ungenügender Zahl der Versuchsdaten einstweilen zurückgestellt.

II. Material und Versuchsanordnung.

Als Untersuchungsmaterial werden die wegen ihrer ausreichenden Größe, mikroskopischen Homogenität, leichten Beschaffbarkeit und bequemen Verwendbarkeit sich empfehlenden Eier von *Rana temporaria* benutzt. Ihre bei genügend schonsamer Beschaffung gegebene Eignung für die Versuche läßt sich leicht durch den Nachweis mikroskopisch unbeschädigter Beschaffenheit der Gallerthüllen des Laichballens prüfen.

Die quantitativ abstufbare mechanische Deformation des Eiprotoplasmas wird durch Zentrifugieren herbeigeführt, und zwar wird, um eine völlige oder teilweise Restitution des experimentell veränderten Situs der Eizelle während der Zeit zwischen Zentrifugieren und Mikroskopieren ganz sicher auszuschließen, die zentrifugenmikroskopische Methode nach Harvey und Loomis[11]) angewandt.

[6]) W. J. Schmidt, Naturwiss. **25**, 506 (1937); Chromosoma **2**, 86, 96 (1941). — Vgl. auch H. H. Pfeiffer, Chromosoma **2**, 77, 79 (1941).

[7]) J. M. Preston, Trans. Faraday Soc. **23**, 65 (1933).

[8]) P. H. Hermans und P. Platzek, Kolloid-Z. **87**, 296 (1929).

[9]) P. H. Hermans, Kolloid-Z. **98**, 62 (1942) und die dortige Literatur. — Vgl. auch O. Kratky, Verh.-Ber. Kolloid-Ges. **13**, 301 (1941) und die dortige Literatur.

[10]) F. Horst Müller, Kolloid-Z. **95**, 138 (1941); Verh.-Ber. Kolloid-Ges. **13**, 326 (1941). — Vgl. auch H. W. Farwell, J. Appl. Phys. **10**, 109 (1939).

[11]) E. Newton Harvey und A. L. Loomis, Science **72**, 42 (1930). — Harvey, Science **75**, 267 (1932); J. Franklin Inst. **214**, 1 (1932); Biol. Bull. **66**, 48 (1932); J. Appl. Phys. **9**, 68 (1938). — H. H. Pfeiffer, Experimentelle Cytologie (Waltham/Mass. 1940), 215.

Dabei sind die Vorrichtungen zum Zentrifugieren und Mikroskopieren durch geschickte Kombinierung in einer einzigen, als Zentrifugenmikroskop oder Mikroskopzentrifuge zu bezeichnenden Apparatur vereinigt, welche im wesentlichen aus einem Motor, einer rotierenden Scheibe mit dem daran angebrachten Objektiv des zusammengesetzten Mikroskops, dem stationären Okular im Tubus des letzteren und einer starken Lichtquelle besteht (Fig. 1). Für die Sonderaufgabe lassen sich die für die Polarisationsmikro-

Fig. 1a

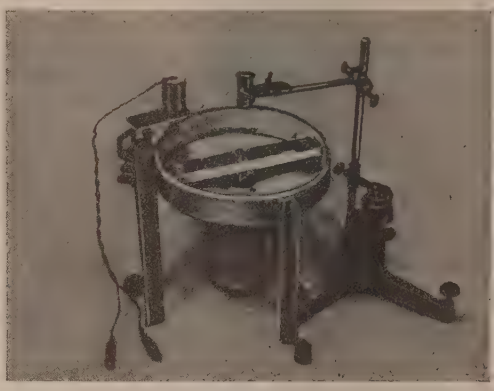


Fig. 1b

Fig. 1. a) Gesamtansicht des Zentrifugenmikroskops nach Harvey und Loomis, b) der Versuchsanordnung mit dem in der Mitte zu sehenden Okular, dem ein Analysator aufgesetzt wird, und der links über dem durch Motor angetriebenen rotierenden Tisch befindlichen Lichtquelle nebst darunter angebrachtem polarisierendem Nicol.

skopie erforderlichen Vorrichtungen (Nicols, Polarisationsfilter, Bernotare oder dergleichen, aber auch Kompensatoren zum Messen) mit der Apparatur vereinigen. Die gegenseitige Lage ihrer wichtigsten Einrichtungen stellt das Schema (Fig. 2) dar. Da erst kürzlich neben der Konstruktion der Apparatur die methodisch-technischen Fragen ebenso wie die Leistungsfähigkeit der zentrifugenmikroskopischen Methode für ältere und neuere zytologische und zytophysikalische Fragestellungen eingehend erörtert worden sind[12]), mag an dieser Stelle darauf verwiesen werden. Insbesondere sei an die Beschreibung der Spezialobjektträger (Fig. 3) und die erforderliche Optik, sowie an die Anbringung der für die Polarisa-

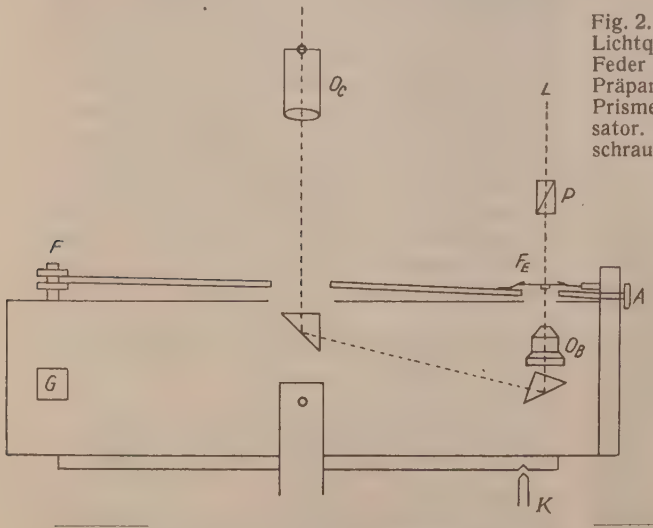


Fig. 2. Schema des Strahlenganges von der Lichtquelle (*L*) durch den Polarisator (*P*), das durch Feder (F_E) und adjustierende Schraube (*A*) gehaltene Präparat, das Objektiv (O_B), ein paar reflektierende Prismen und das Okular (O_C) mit aufgesetztem Analysator. Ferner bezeichnen: *F* die Fokusierungsschraube, *G* ein Gegengewicht und *K* die Kontaktvorrichtung.

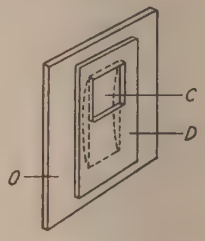


Fig. 3. Zentrifugierungszelle (*C*) aus quadratischem Spezialobjektträger (*O*) und Deckglas (*D*).

[12]) H. H. Pfeiffer, Z. wiss. Mikroskopie **57**, 379 (1941). — Über die Kombination mit polarisationsmikroskopischen Ergänzungsapparaten einschließlich Kompensatoren siehe Pfeiffer: loc. cit. 386 und 396, sowie Biodynamica **2**, Nr. 35 (1938); Verh. 5. internat. Zellforschg.-Kongr. (Zürich 1938), 263.

tionsmikroskopie benötigten Beobachtungs- und Messungsvorrichtungen erinnert. Bei den Messungsversuchen kann ein direkter Handantrieb der Zentrifuge wegen der wohl durch den seitlichen Angriff der Triebkraft verursachten unkontrollierbaren Vibrationen nicht befriedigen, doch genügt bereits ein einfacher Antrieb mittels Elektromotors mit selbstbalanzierendem Rotor auf vertikaler Welle, um die erforderlichen Geschwindigkeiten ohne jenen Nachteil zu gewährleisten (Bauweise nach Art von Milch- und Ölseparatoren).

Empirisch hat sich gezeigt, daß eine bestimmte Zentrifugalbeschleunigung an einem im übrigen einheitlichen Eimaterial jeweils einen gut definierten Deformierungsgrad hervorruft, so daß auch ohne Bestimmung der experimentell veränderten Eidimension schon mit der nach Wunsch abgestuften und bequem ablesbaren Zentrifugiergeschwindigkeit ein brauchbares Maß der Deformation der Eizelle und der Ausrichtung ihrer Leptonen gegeben ist (s. S. 258). Im Vergleich zu mikrurgischen Dehnungsversuchen hat eine solche Arbeitsweise den Vorzug, daß die Apparatur vorweg auf einen bestimmten Deformationsgrad eingestellt und dieser dann automatisch mit großer Genauigkeit herbeigeführt werden kann, sofern einheitliches Eimaterial zur Verfügung steht.

Um die Einheitlichkeit des Versuchsmaterials auch in kolloidchemischer Hinsicht wenigstens in geringem Grade zu kontrollieren, sind, da Bestimmungen des Quellungszustandes an den Eizellen weniger leicht durchgeführt werden können, ohne sie für den Versuch unbrauchbar zu machen, Bestimmungen der absoluten Viskosität nach Pekarek's Methode[13]) der Ermittlung der mittleren, doppelseitigen Erstpassagezeiten in Brown'scher Bewegung befindlicher Teilchen vorgenommen worden. Erforderlich ist in solchem Falle die Einführung von granulabildenden Vitalfarbstoffen, welche in Brownsche Bewegung geraten, beispielsweise die Vitalfärbung mit Neutralrot oder Methylenblau (Präparate Dr. K. Hollborn & Söhne, Leipzig: H 186 bzw. 168).

Die absolute Viskosität $\bar{\eta}$ wird nach der Formel

$$\bar{\eta} = \frac{R}{N} \cdot T \cdot \frac{t}{3\pi a l^3 n}$$

(worin R die absolute Gaskonstante, N die Loschmidt'sche Zahl, T die absolute Temperatur, l den Abstand zweier Teilstriche des gerade benutzten Okularrasters, sowie t die mit der Stoppuhr während der Gesamtheit aller Passagen vergangene Zeit in Sekunden, a den mikrometrisch bestimmten Teilchenradius, n die Zahl der gefundenen Passagen bedeuten) durch Bestimmung von T, t, a und n ermittelt. Über die auch früher bereits erprobte Messungsmethode wird im übrigen schon von Pekarek alles Wissenswerte mitgeteilt.

Charakter und Intensität der Doppelbrechung sind mit der sehr empfindlichen Methode nach Brace[14]) und Köhler[14]) ermittelt worden, über welche besonders Schmidt[14]) sehr eingehende Arbeitsanweisungen gegeben hat, denen man sich möglichst eng anschließen sollte. Wegen der konstruktiven Anordnung des Objektivs an dem Zentrifugenmikroskop (s. Fig. 2) ist es erforderlich, den Polarisator — anfangs ist eine Polaroidplatte, später nach verbesserter Bauart ein Nicol'sches Prisma benutzt worden — vor (also über) dem Objektiv und dem in Zentrifugalbewegung versetzten Objekt, das analysierende Nicol'sche Prisma aber in der auch sonst gebräuchlichen Weise dem Fadenkreuzokular nach F. E. Wright im Tubus aufzusetzen. Zur weiteren Steigerung der Empfindlichkeit der Methode dient ein Halbschattenkeil nach Macé de Lépinay oder einer anderen Konstruktion[15]) Um Störungen durch kompensatorische Nebeneffekte, vor allem durch Einflüsse der benutzten Optik der Apparatur zu vermeiden, befindet sich ein Glimmerplättchen auf dem Blendenträger des Abbe'schen Beleuchtungsapparats, durch welches die polarisationsoptische Störung vor Beginn der stets bei enger Blendenstellung vorzunehmenden Untersuchung durch Drehen möglichst beseitigt wird.

III. Beobachtungs- und Messungsbefunde.

1. Die ruhenden Eizellen zeigen vor dem Zentrifugieren trotz der hohen Empfindlichkeit der Messungsbefunde keinerlei Anzeichen für Doppelbrechung. Daß es sich bei diesem Beobachtungsergebnis aber nur um statistische Isotropie handelt, ergibt sich sogleich aus dem Verhalten der zentrifugierten Eier. Mit Einsetzen der Schleuderbewegung (ca. 10000—20000 Rotationen/Min.) erfährt das Protoplasma der Eizellen

[13]) I. Pekarek, Protoplasma **10**, 510; **11**, 19 (1930); **17**, 1 (1932). — Vgl. auch H. H. Pfeiffer, Physics **7**, 302 (1936); Verh. Dtsch. Zool. Ges. **39**, 106 (1937); Experimentelle Cytologie, 36.

[14]) D. Brace, Physic. Rev. **18**, 70 (1904). — A. Köhler, Z. wiss. Mikroskopie **38**, 29, 209 (1921). — H. Ambronn und A. Frey, Das Polarisationsmikroskop (Leipzig 1926), 67. — W. J. Schmidt, Handb. biol. Arbeitsmethod. (X) **5**, 435, 535 (1934). — Vgl. auch F. Weigert, Optische Methoden der Chemie (Leipzig 1927), 392. — Siehe ferner die Bedingungsgleichungen und Formeln zur Messung der Halbschattenazimute, der Phasendifferenzen und des Elliptizitätskoeffizienten bei F. Kohlrausch, Praktische Physik, 17. Auflage (Leipzig und Berlin 1935), 457.

[15]) Kohlrausch, loc. cit., S. 451, 453.

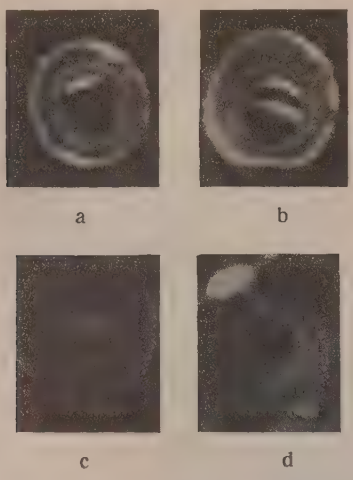


Fig. 4. Aufeinanderfolgende Stadien der Deformation der zentrifugierten Eizelle: a) Sichelbildung, b) Stratifikation, c) und d) weitere Stadien bis zu hantelförmiger Einschnürung.

alsbald eine schwache, aber unverkennbare Deformation (Fig. 4a) und zugleich am abgekehrten Pole die Ausbildung einer polarisationsmikroskopisch kenntlichen Aufhellung. Bei fortgesetzter Zentrifugation tritt sodann eine Stratifikation der verschiedenen Eibestandteile (Fig. 4b) ein, welcher bei weiterer Schleuderung noch mehrere Stadien morphologischer Deformierung bis zu solchen hantelförmiger Einschnürung (Fig. 4c—d) folgen. Polarisationsmikroskopisch hat sich während dieser Fortsetzung des Zentrifugierversuches anfangs die an der Aufhellung kenntliche Sichel anisotropen Materials verbreitert und verlängert (vom Eizentrum aus gemessen) und dann unter langsamer, gleichmäßiger Breitenabnahme erheblich in die Länge gezogen. Zugleich beginnt der Aufhellungsgrad auch bei qualitativer Beobachtung des Phänomens in diesen späteren Stadien anfangs langsam und dann immer schneller zu wachsen.

Der polarisationsmikroskopisch bereits qualitativ erkennbare Orientierungseffekt kommt übrigens gelegentlich auch im grobmechanischen Verhalten der Objekte dadurch zum Ausdruck, daß die beim Zentrifugieren hervorgerufenen protoplasmatischen Extrusionen bisweilen — besonders deutlich anscheinend in Stadien verstärkter Deformation durch maximal gesteigerte Zentrifugalbeschleunigung — in der Deformationsrichtung eine erhöhte Spaltbarkeit aufzuweisen beginnen.

2. Ob auch der Charakter der Doppelbrechung der zentrifugierten Eizellen für die gesetzten Versuchsziele ohne besondere Bedeutung ist, mag darüber doch eine kurze Bemerkung eingeschaltet werden. Bekanntlich bezeichnet man den Charakter der Doppelbrechung als positiv, wenn die optische Achse mit der Richtung geringster Elastizität zusammenfällt, also $n_e > n_o$ ist; im umgekehrten Falle ist das Objekt optisch negativ. Wie durch Bewegen des Glimmerkompensators zu ermitteln ist, läuft die Richtung des größten Brechungskoeffizienten n_y der Achse der deformativen Extrusion parallel, d. h. die Außenfläche des deformierten Eivorsprunges ist im Radialschnitt in bezug auf die morphologische Achse der Deformation optisch positiv.

3. Den Deformationsgrad des zentrifugierten Eiprotoplasmas kann man am bequemsten durch Regulierung der Zentrifugiergeschwindigkeit verändern. Um einen leicht vergleichbaren Anhaltspunkt für die Gleichmäßigkeit der Deformation des Objekts zu haben, sind Vorversuche mit wechselnden Zentrifugalgeschwindigkeiten angestellt worden (Fig. 5). Dabei hat sich gezeigt, daß mit

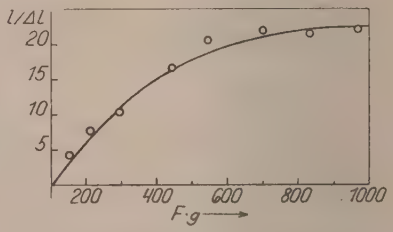


Fig. 5. Abhängigkeit des Deformationsgrades ($l/\Delta l$) von der Fliehkraft (Zentrifugalgeschwindigkeit F mal Gravitation g).

Zunahme der Zentrifugiergeschwindigkeit die in der Zeiteinheit ($^1/_6$ Min.) erzielte Deformation steigt, sofern man als Maximalwert der Deformation genügend unter einem Stadium tropfenförmiger Zerschnürung des Objektes bleibt. Eigens dazu angestellte Versuche haben ergeben, daß zu sehr verschiedenen Zeitpunkten entnommene Eizellen übereinstimmenden Alters und nachweisbar gleicher Viskosität gut reproduzierbare Ergebnisse hinsichtlich der Abhängigkeit des Deformationsgrades von der Zentrifugalbeschleunigung ergeben. Durch die Versuchsanordnung der Mikroskopzentrifuge ist es möglich, den einer gegebenen Zentrifugalgeschwindigkeit adäquaten Deformationsgrad beliebig lange mit großer Genauigkeit beizubehalten, durch Sistieren der Zentrifugalkraft bis nahe zur Reversibilität aufzuheben und durch erneutes Zentrifugieren in nahezu übereinstimmendem Maße erneut herbeizuführen. Durch Erhöhung der Zentrifugier-

geschwindigkeit wird eine verstärkte Deformation bzw. das Erreichen des nächsten der oben genannten Stadien herbeigeführt, durch Herabsetzung der Schleuderung umgekehrt die entgegengesetzte Formveränderung nebst der zugehörigen polarisationsoptischen Änderung des Materials bewirkt (siehe aber auch Abschnitt 7).

4. Nach sorgfältiger Untersuchung der absoluten Viskosität der ruhenden Eizelle (siehe die tabellarische Wiedergabe eines Versuchsprotokolls) ergibt die Bestimmung der Methode der doppelseitigen Erstpassagezeiten je nach der Herkunft des Eimaterials, seinem Alter, Vitalitätszustand u. dgl. Werte zwischen 0,038 und 0,052

Tabelle I. Bestimmung der absoluten Viskosität $\bar{\eta}$ nach der Methode der doppelseitigen Erstpassagezeiten in Brown'scher Bewegung befindlicher Teilchen.

a) im Protoplasma des Eiinnern				b) in der protoplasmatischen Extrusion			
t	$a \cdot 10^{-5}$	n	$\bar{\eta}$	t	$a \cdot 10^{-5}$	n	$\bar{\eta}$
78	15	20	0,0446	65	10	20	0,0558
88	5	6	0456	100	5,8	5	0533
111	10	10	0480	118	10	40	0506
85	15	20	0486	110	9	10	0524
100	10	10	0429	123	10	10	0527
110	10	40	0472	190	12	50	0543
97	6,7	5	0452	120	10	10	0515
116	10	10	0497	240	10	20	0515
			$\bar{\eta} = 0{,}0464_7$				$\bar{\eta} = 0{,}0527_6$

Poise. Wenn man nun den Kolloidzustand des zentrifugierten Protoplasmamaterials nach der absoluten Viskosität beurteilen will, so ist vorweg zu berücksichtigen, daß man stets unterscheiden sollte zwischen der Viskosität in dem äußerlich nicht oder kaum deformierten Anteil der Eizelle und jener in der durch das Schleudern hervorgerufenen Extrusion. Immer ist die im Eiinnern gemessene Viskosität niedriger als die an letzterer Stelle gefundene. Sind für jene etwa Viskositätswerte zwischen 0,038 und 0,044 Poise charakteristisch, so finden wir im Protoplasma der Extrusionen solche zwischen 0,042 und 0,052

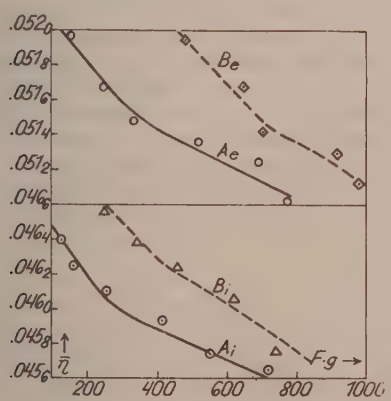


Fig. 6. Abnahme der absoluten Viskosität ($\bar{\eta}$), gemessen im Protoplasmainnern (A_i, B_i) und in der durch das Zentrifugieren hervorgerufenen Extrusion (A_e, B_e) von der Zentrifugalkraft ($F \cdot g$).

Poise. Eigenartig, aber aus der vertretenen Auffassung des Eiprotoplasmas als einer nicht-Newton'schen (strukturviskosen) Flüssigkeit einleuchtend ist der Befund, daß vornehmlich bei beginnender Steigerung der Zentrifugiergeschwindigkeit und bei Einsetzen der Schleuderbewegung die gemessene Viskosität sinkt (Fig. 6). Hingeger ist die Reduktion der Viskositätswerte bei fortgesetztem Zentrifugieren mit konstanter Geschwindigkeit äußerst gering und übersteigt oft sicher kaum die Grenzen der erreichbaren Meßgenauigkeit. Eine beschleunigte Erhöhung der Zentrifugiergeschwindigkeit läßt das Absinken der Werte der absoluten Viskosität weniger gut erkennen.

5. Bei Vergleich der Intensität der Doppelbrechung als Funktion wachsenden Orientierungsgrades, d. i. zunehmender Zentrifugalbeschleunigung, sind eine Reihe bedeutsamer Befunde zu verzeichnen. Sorgfältige, genau durchgeführte Messungsreihen ergeben für das erste Stadium der beginnenden Deformation eine nahezu lineare Abhängigkeit zwischen zunehmender Doppelbrechung und erhöhter Deformation. Die gemessenen Gangunterschiede sind, genügend einheitliches Versuchsmaterial (siehe unten) vorausgesetzt, für jeweils bestimmte Deformations-(Orientierungs-)Grade charakteristisch. Erst bei 10 Min. und länger fortgesetztem Zentrifugieren oder in Stadien ungewöhnlich starker Deformation läßt sich eine weitere Erhöhung der Gangunterschiede erzielen. Im übrigen folgt auf ein Stadium linearen Kurvenverlaufes der

Doppelbrechung gegen Deformationszunahme bei deren stärkerem Anwachsen eine Art von Sättigungsstadium, in welchem die Anisotropie nicht in demselben Maße wie die Deformation steigt, sondern in ihren Werten hinter letzterer merklich zurückbleibt. Schließlich führen verstärkte Zentrifugalbeschleunigungen infolge der dadurch erzielten erhöhten Deformation zur Ruptur des Systems durch Auflösung in zwei tropfig sich trennende Anteile. Diese letztmöglichen Deformationen sind trotz der zu erwartenden mechanischen Spannungen zwischen den protoplasmatischen Leptonen nicht mit einer sicher nachweisbaren weiteren Erhöhung der Doppelbrechung verknüpft, so daß eine zusätzliche Spannungsdoppelbrechung auf diese Weise zwar nicht sicher ausgeschlossen, aber auch nicht durch gesicherte Messungsbefunde begründet werden kann (siehe unten Abschnitt 6, 7). Alle diese und weitere Feinheiten in der Abhängigkeit zwischen Doppelbrechung und Zentrifugalbeschleunigung treten nicht oder weit weniger deutlich hervor, wenn die Deformationen sogleich mit größerer Gewaltsamkeit herbeigeführt oder ihre Verstärkung zeitlich beschleunigt wird.

6. Führen wir die besprochenen Versuche mit Eiern wechselnder Viskosität aus, so zeigt sich alsbald, daß die Intensität der Doppelbrechung in Funktion der Zentrifugalgeschwindigkeit um so rascher ansteigt, je geringer die absolute Viskosität ist (Fig. 7). Stets finden wir einen ganz oder fast linearen Verlauf der Kurven jener Abhängigkeit; höchstens an Eiern besonders hoher Viskosität wird in den Stadien höherer Zentrifugalbeschleunigungen eine schwache Zunahme der Gangunterschiede über das aus der linearen Abhängigkeit folgende Maß hinaus gefunden. Auch wird an solchen höher viskosen Eiern das Sättigungsstadium erst später erreicht, d. h. zeigt die maximale Deformation deutlich höhere Werte, ohne daß oder bevor eine Überwindung der Festigkeitsgrenze hervorgerufen wird. Beide Befunde weisen vielleicht darauf hin, daß sich in solchen Fällen extrem hoher Viskosität der Eier in diesen Stadien stärkster zentrifugaler Deformation der Orientierungs- doch eine Spannungsdoppelbrechung überlagert, auch wenn die letztere zunächst nicht gesondert meßbar und aus der „Gesamtdoppelbrechung" noch nicht eliminierbar ist.

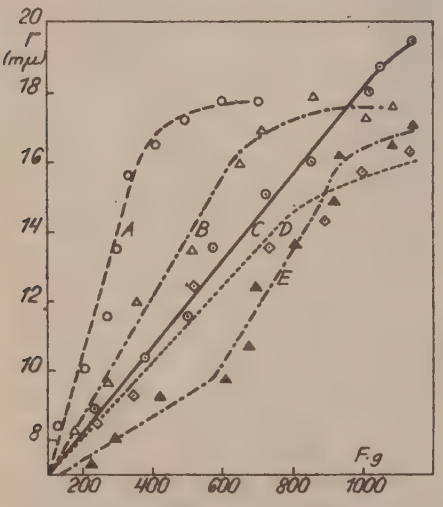


Fig. 7. Abhängigkeit der Gangunterschiede Γ, gemessen in mμ, von der Zentrifugalkraft ($F \cdot g$) bei Eiern zunehmender Viskosität A: $\bar{\eta} = 0{,}0442$; B: 0,0468; C: 0,0489; D: 0,0502) respektive bei fraktionierter Deformation (E, wo $\bar{\eta}$ anfangs 0,0522).

7. Es liegt in der Natur des Versuchseingriffes des Zentrifugierens, daß mit dessen Aufhören der Situs der deformierten Eizelle nach genügend langer Zeit restituiert wird. Währenddessen geht auch die Doppelbrechung an Intensität zurück, und zwar erfolgt das Absinken der Gangunterschiede offenbar in kürzerer Zeit, als nach mikroskopischer Beobachtung für die Restitution der ursprünglichen Orientierung der Leptonen angenommen werden muß. Dasselbe Ergebnis zeigt sich, wenn das Zentrifugieren der Eizelle vorzeitig unterbrochen oder die Zentrifugalbeschleunigung herabgesetzt wird. Es ist höchst bemerkenswert, daß, wenn die Deformation sodann mit erhöhter Zentrifugalgeschwindigkeit fortgesetzt wird, der Anstieg der Kurve der Gangunterschiede gegen die Deformation eine unerwartete Zunahme der Steilheit erfährt (Fig. 7, E). Bei einer solchen „fraktionierten Deformation" durch sukzessiv gesteigertes Zentrifugieren erhält man im Maximum höhere Werte des Gangunterschieds, als der gerade benutzten „Viskositätsklasse" entspricht. Es muß indessen vorläufig unentschieden bleiben, wieweit auch in diesen Versuchen eine Spannungsdoppelbrechung jene durch Orientierung überlagert.

IV. Diskussion der Versuche.

Bei dem Ausbleiben der optischen Anisotropie am Protoplasma der ruhenden Eier (S. 257) mögen wir uns daran erinnern, wie nach Kratky[16])

[16]) O. Kratky, Diskussionsbemerkung, Verh.-Ber. Kolloid-Ges. 12, 148 (1938). — Siehe auch W. J. Schmidt, ibid., und O. Kratky in Verh.-Ber. Kolloid-Ges. 13, 159 (1941).

aus der optischen Isotropie nicht ohne weiteres auf völlige Unordnung der Leptonen geschlossen werden darf. In dem von ihm angezogenen Beispiel hat sich vielmehr eine Orientierung in kleinen Bereichen durch annähernde Parallelität benachbarter Mizelle und die Entstehung der Isotropie durch Addition kleinster gegenseitiger Verwerfungen in Bereichen mikroskopischer Ausdehnung wahrscheinlich machen lassen. Wir müssen uns also darüber klar sein, daß nicht entschieden werden kann, ob sich im ruhenden Protoplasma die Streuung der Leptonen auf einzelne ungeordnete Fadenmolekeln oder auf gittermäßig geordnete, gegeneinander Verwerfungen aufweisende Bereiche bezieht. Damit ist, wie zugegeben werden muß, die wahre Natur der experimentellen Orientierung nur sehr ungenügend bekannt. Trotzdem dürfen wir das Auftreten von Doppelbrechung und vor allem die allmähliche Steigerung der Gangunterschiede (S. 259) an den zentrifugierten Eiern als eine Wirkung des Orientierungsversuches betrachten, zumal der gleiche Richtungseffekt gelegentlich auch grobmechanisch durch erhöhte Spaltbarkeit (S. 258) ausgedrückt sein kann[17]). Der aus den Messungen der Gangunterschiede erschlossene Verlauf der Orientierungszunahme ist nur vereinbar mit einer mikroheterogenen Leptonik des Eiprotoplasmas. Dabei ist an den zentrifugierten Eiern aus dem positiven Charakter der Doppelbrechung (S. 258) nach dem Stande unserer Kenntnis[18]) zu folgern, daß der Effekt vermutlich auf der Ausrichtung von Polypeptidfadenmolekeln beruht[19]). Offenbar werden diese anisodimensionalen Teilchen durch das Zentrifugieren derart orientiert, daß sie in die Lage geringsten Widerstandes gegen die Zentrifugalbeschleunigung gedrängt werden, daß also ihre Längsachse mit der Zentrifugierrichtung zusammenfällt. Die feineren Vorgänge, wie vielleicht Mitwirkung Brown'scher Bewegung, Beeinflussung durch Deformierbarkeit (Formelastizität) und innere Reibung[20]), bleiben allerdings vorläufig unaufgeklärt und müssen durch fortgesetzte Versuche zu erfassen gesucht werden.

Aus der in einem weiten Versuchsbereiche linear verlaufenden Abhängigkeit[21]) von optischer Anisotropie und Orientierung durch Zentrifugieren (S. 259) mag wohl abgeleitet werden, daß das Protoplasma nicht lediglich ein Aggregat kristalliner Gitterbereiche darstellt[22]). In dem Abbiegen der ermittelten Kurven nach Erreichen des „Sättigungsstadiums" (S. 260) dürfen wir vielleicht eine Art Blockierung der Deformation erblicken, welche nach einer Vorstellung von P. H. Hermans[23]) mit einer Zerstörung innerer Zusammenhänge im Molekulargerüst gewisser Leptonen einhergehen mag, oder es könnten dabei im Sinne von Müller[23]) Verschlaufungen (rückläufige Schlingen im Molekulargerüst) der Polypeptidfadenmolekeln wirksam werden. Vielleicht ist auch der Einfluß der Viskosität auf die Steilheit des Kurvenanstiegs (S. 260) so zu deuten, daß sich bei geringerer Viskosität der Verschlaufungsgrad stark vermindert. Wenn etwa eine Retikularstruktur[24]) realisiert sein sollte, bei welcher die Maschen gegen das Ende der Deformation zugezogen werden und die Orientierung unter den gegebenen Verhältnissen ihr Maximum erreicht, so leuchtet ein, daß man von einem Zustand der Parallelität sämtlicher Fadenmolekeln weit entfernt bleiben wird, d. h es würde auch die immerhin begrenzte Intensität der Doppelbrechung des Versuchsmaterials sogleich verständlich werden. Eine verbesserte Orientierung und damit verstärkte Doppelbrechung scheint dann[25]) erst unter solchen Deformationsbedingungen einzutreten, welche zu wahrem Fließen und zum Lösen der „Haftpunkte" nach der Vorstellung Frey-Wyssling's[26]) führen, nämlich durch die Versuche einer „fraktionierten Deformation" (S. 260). Unsicher bleibt eine eindeutige Antwort auf die Frage, ob die Orientierungsdoppelbrechung bei Deformieren mittels des Zentrifugierversuches von

[17]) Vgl. I. R. Katz und O. Gerngroß, Kolloid-Z. **39**, 180 (1926). — M. Bergmann und B. Jacobi, Kolloid-Z. **49**, 46 (1929).

[18]) W. J. Schmidt, Die Doppelbrechung von Karyoplasma, Zytoplasma und Metaplasma (Berlin 1937), 59. — Fr. Buchthal und G. G. Knappeis, Tab. Biol. **13**/I, 346, 353 u. a. (1939).

[19]) Vgl. A. Frey-Wyssling, Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate (Berlin 1938), 113.

[20]) Vgl. W. Haller, Kolloid-Z. **61**, 26, 35, 38 (1932).

[21]) Vgl. H. W. Farwell, loc. cit. — F. Horst Müller, Kolloid-Z. **95**, 138, 150, 160 (1941). — P. H. Hermans, Kolloid-Z. **98**, 62, 64 (1942).

[22]) P. H. Hermans und P. Platzek, Kolloid-Z. **88**, 68 (1939). — Hermans, loc. cit., S. 67.

[23]) Müller, loc. cit., S. 150. — Hermans, loc. cit., S. 66.

[24]) Vgl. hierzu und zu der Theorie der akzidentellen Raumgitterbildung bei der Dehnung: Wo. Ostwald, Diskussionsbemerkung, Verh.-Ber. Kolloid-Ges. **10**, 339 (1934); gründliche historische Ausführungen von demselben in Verh.-Ber. Kolloid-Ges. **13**, 318 (1941).

[25]) Hermans, Diskussionsbemerkung, Verh.-Ber. Kolloid-Ges. **13**, 325 (1941).

[26]) Frey-Wyssling, loc. cit., S. 75, 108, 138, 216; Proc. 6. internat. Bot. Congr. (Amsterdam 1935), 294; Verh.-Ber. Kolloid-Ges. **12**, 148, 156 (1938).

einer Spannungsdoppelbrechung überlagert wird (S. 260); durch einen Teil der Befunde ist eine solche Möglichkeit aber ziemlich wahrscheinlich[27]). Völlig ungeklärt bleibt auch, ob während des Zentrifugierens und der dabei vorgenommenen Messungen ein Anstieg des geordneten Anteiles der Leptonen eintritt, ob also ein Teil der Zunahme der Gangunterschiede auf eine solche zusätzliche Entstehung raumgittermäßig geordneter Bereiche zurückgeführt werden muß. Das nicht völlig reversible Verhalten der Intensität der Doppelbrechung bei Einstellen der Zentrifugierbewegung oder Herabsetzen ihrer Geschwindigkeit (S. 260) möchte auch diese Möglichkeit annehmen lassen. Kratky[28]) schließt aus seinen Messungen an Hydratzellulosefäden auf einen Anstieg der Menge des kristallinen Anteils um vielleicht 20—30 Proz., doch hält er vorläufig daran fest, daß „in erster Linie eine Orientierung der bereits vorhandenen Kristalle, in zweiter Linie vielleicht ein relativ geringer Zuwachs weiterer kristalliner Bereiche" vorkommt.

Zusammenfassend können wir also wohl feststellen, daß die Intensität der Doppelbrechung an den zentrifugierten Eiern außer von der chemischen Konstitution (wobei ganz besonders auch der Charakter der Doppelbrechung beeinflußt werden wird) auch vom Orientierungsgrad sowie vom relativen Volumen gittermäßig orientierbarer und „amorpher" Anteile des leptonischen Gefüges, von der Viskosität, vom Quellungszustande und vielleicht noch weiteren Variablen abhängt. Eine Beziehung zum Fältelungs- bzw. Entfältelungszustande der angenommenen Fadenmolekeln der Polypeptide, wie sie bei mikrurgischen Dehnungsversuchen an Chromatinabschnitten aus *Chara*-Spermatozoiden[29]) oder an Riesenchromosomen von *Chironomus*[30]) wahrscheinlich gemacht worden ist, hat sich bis soweit nicht nachweisen lassen. Aber auch so sind die gemessenen Werte des Gangunterschiedes allein noch kein immer verläßliches Maß der mittleren Orientierung[31]), wie Versuche über den Einfluß der Viskosität (S. 260), der Quellung[32]) oder der andern genannten Variabeln bei übereinstimmendem Deformationsgrade erkennen lassen. Immerhin dürfte bei Konstanthalten aller andern Variabeln die Orientierung der Leptonen für ein bestimmtes Objekt gegebener chemischer Konstitution und bestimmten Viskositäts- und Quellungsverhaltens direkt proportional der bei gleicher durchstrahlter Dicke in den Gangunterschieden meßbaren Intensität der Doppelbrechung sein. Wenn nach Caspersson[33]) sich der polarisationsmikroskopisch nachweisbare Orientierungsgrad in einer Größenordnung von 3 bis 5 Proz. bewegt, so liegt hierin nur ein wertvoller Hinweis für die ungewöhnlich hohe Empfindlichkeit der Anisotropiemessungen nach der Methode von Brace-Köhler[34]). Im übrigen bleiben wir uns bewußt, daß wir mit den zentrifugenmikroskopischen Versuchen bei aller Anerkennung des hohen Wertes dieser Methode[35]) auf eine wahrhaft grobe Weise in das feine leptonische System, welches auf subtile physikalische Einflüsse zu reagieren vermag, eingegriffen haben; doch sollen die Versuche auch nur erst einen Anfang bedeuten, welcher wohl immer erst einmal ein vorsichtiges Vortasten sein muß. Wenn heute noch die Ansichten über die Beziehung zwischen Gangunterschieden und solchen der Orientierung der Leptonen vielfach auseinandergehen, so mag das zwar bei dem reichen Zustrom phänomenologischen Versuchsmaterials verständlich sein; es erwächst uns aber daraus die Aufgabe, diese Lücke unserer Einsicht durch experimentelle Arbeit zu schließen und die Analyse mechanischer Deformation mittels mikrurgischer oder zentrifugenmikroskopischer Eingriffe soweit voranzutreiben, wie das auf dem Gebiete der Strömungsdoppelbrechung[36]) schon geschehen ist. Dabei wird dann hoffentlich Gelegenheit sein, auf gewisse, hier noch unbeachtet gebliebene Feinheiten ebenfalls einzugehen, wie etwa Störungen der allgemeinen Orientierung in Randpartien der beim Zentrifugieren gebildeten Extrusionen des Eiprotoplasmas. Die Empfindlichkeit der Meßmethode scheint dazu nach dem Stande der Versuche durchaus auszureichen.

[27]) Vgl. Hermans u. P. Platzek, Z. physik. Chem., Abt. A **185**, 301 (1939), aber auch H. R. Kruyt, D. Vermaas und Hermans, Kolloid-Z. **100**, 111 (1942), und ihre Erscheinung der Adsorptionsdoppelbrechung.

[28]) O. Kratky, Diskussionsbemerkung, Verh.-Ber. Kolloid-Ges. **13**, 325 (1941).

[29]) H. H. Pfeiffer, Chromosoma **2**, im Druck (1942).

[30]) H. H. Pfeiffer, Chromosoma **1**, 526 (1940); **2**, 77 (1941).

[31]) Hermans, Kolloid-Z. **98**, 66 (1942).

[32]) P. H. Hermans und J. de Booys, Kolloid-Z. **88**, 73 (1939). — W. J. Schmidt, loc. cit., S. 60.

[33]) T. Caspersson, Chromosoma **1**, 605; **2**, 247 (1941).

[34]) H. H. Pfeiffer, Chromosoma **2**, im Druck (1942). — Vgl. auch W. J. Schmidt, Chromosoma **2**, 86, 105 (1941).

[35]) H. H. Pfeiffer, Z. wiss. Mikroskopie **57**, 379, 387 (1941).

[36]) Vgl. F. Weigert, Optische Methoden der Chemie (Leipzig 1927), 524. — W. Haller, Kolloid-Z. **61**, 26 (1932). — W. Kuhn, Kolloid-Z. **62**, 269 (1933). — G. Boehm, Handb. biol. Arbeitsmethod. (II) **3**, 3939 (1939). — W. Philippoff, Viskosität der Kolloide (Dresden und Leipzig 1942), 388, 398 u. a.

V. Zusammenfassung.

Das im ruhenden Zustande statistisch isotrope Eiprotoplasma von *Rana temporaria* zeigt beim Zentrifugieren eine in bezug auf die morphologische Achse der Deformation positive Doppelbrechung, welche sich mit wachsender Zentrifugalbeschleunigung erhöht. Innerhalb bestimmter Grenzen läßt sich die letztere als Maß der Deformation des Objekts nehmen. Die absolute Viskosität, welche nach Pekarek's Methode der doppelseitigen Erstpassagezeiten in Brown'scher Bewegung befindlicher Teilchen gemessen worden ist, ergibt in den deformierten Zellanteilen höhere Werte als im übrigen Ei und erfährt eine Abnahme durch das Zentrifugieren. Mit deren Geschwindigkeitszunahme steigen die nach dem Verfahren von Brace-Köhler ermittelten Gangunterschiede anfangs linear, führen dann aber zu einer Art Sättigungsstadium. Die Steilheit dieser Kurven wächst mit der Verminderung der Viskosität des Objekts. Die durch Zentrifugieren hervorgerufene Orientierung der protoplasmatischen Leptonen ist nur teilweise reversibel und führt bei sog. „fraktionierter" Deformation zu unerwarteter Steilheit der Kurven. Alle diese und viele weitere Versuchsergebnisse werden schließlich in Beziehung zu neueren Auffassungen über das Orientieren von Strukturen und seine Auswirkung auf optische Anisotropie diskutiert.

Aus dem Forschungsinstitut für Farbentechnik, Stuttgart.

Filmbildung aus Emulsionen, II.*)

Von Hans Wagner und Adolf Walter Böhnisch (Stuttgart).[1])

(Eingegangen am 15. Mai 1942)

Wenn im folgenden von Filmstruktur die Rede ist, so ist darunter der Grobbau von Filmen zu verstehen, wie er meist schon bei Betrachtung mit freiem Auge an uneinheitlicher Zusammensetzung, deutlich aber im Mikroskop bei mäßiger Vergrößerung an ungleichartigen Bauelementen wie Netzen, Waben, Kugeln, Luftblasen und auch Kristallisaten unmittelbar in Erscheinung tritt. Was dieser „Realstruktur" als mikroskopisch erkennbare „optische Struktur" gegenübersteht, was also als Folge heterogenen Aufbaus an Erscheinungen der Reflexion und Beugung beobachtbar wird, ist dem Grobbau nicht zugezählt. In dem hier zugrunde gelegten Sinne sind die flüssigen organischen Filmbildner und die Anorganosole fester Filmbildner sowie die aus ihnen gebildeten Filme als strukturlos zu betrachten. Die Filme sind demnach im Wesentlichen einheitlich, klar und mehr oder weniger glänzend. Sie sind, um mit Manegold[2]) zu reden, der kompakten Materie zuzuzählen, welche aus undurchdringlicher Materie und atomarem Kraftraum zusammengesetzt ist. Filme, deren Hohlraumsystem bereits in die Größenordnung der Kapillarräume reicht, sind technisch mangelhaft und daher nicht erstrebenswert. Daß sie in Sonderfällen auch eine Rolle spielen können, ändert hieran nichts.

Vom Standpunkt der Filmbildung aus betrachtet, wäre das Ideal einer Emulsion dadurch gekennzeichnet, daß der Film mit dem aus dem Organosol erhaltenen in jeder Hinsicht übereinstimmt, also auch strukturlos ist, kompakte Materie darstellt. Es widerspricht dem Wesen der Emulsion, daß dieses Ideal vollkommen erreicht werden kann. Denn das Vorhandensein von Wasser im dispersen System wird, soferne dieses System einigermaßen beständig ist und damit die Voraussetzung für die technische Verwendbarkeit erfüllt, sich stets irgendwie in der Filmbildung äußern und auch den Trockenvorgang, sei er chemisch oder physikalisch, beeinflussen. Die Anwesenheit wenn auch kleiner Mengen von Emulgatoren und Schutzkolloiden und die häufige Gegenwart wasserbenetzbarer Gruppen in den nicht wässerigen Anteilen schließt aber die Bildung kompakter Materie vollständig aus, es wird sich immer kompakte Materie + Kapillarraum, also kohärente Materie bilden, deren Eigenschaften nach Manegold durch die der Wandsubstanz, der Füllsubstanz und des gebildeten Kapillarraums bedingt sind und demnach nie mit den Eigenschaften eines guten Lackfilms, günstigstenfalls aber mit denen eines technisch fehlerhaften Lackfilmes übereinstimmen können. Es wird sich also stets nur um eine Annäherung des Emulsionsfilms an den Lackfilm handeln können. Diese Annäherung ist im Film aus WO-Emulsionen leichter zu erzielen, als in dem von OW-Emulsionen. Ja, man darf sagen, daß diese Annäherung

*) Mitteilung Nr. 50.

[1]) 1. Mitteilung: H. Wagner und G. Fischer, Kolloid-Z. **77**, 12 (1936).

[2]) E. Manegold, Zur Systematik der Gele, Kolloid-Z. **96**, 186 (1941).

bei bestimmten WO-Systemen in einer praktisch durchaus genügenden Vollkommenheit erreicht werden kann. Wenn man nämlich solche Emulsionen aus trocknenden Ölen ohne jeglichen Emulgator herstellt, läßt sich die Füllsubstanz sehr stark verringern, wodurch die Ausbildung von Kapillarräumen wesentlich beeinträchtigt ist, da das Wasser fast ganz aus dem Film verdunsten kann und das zur Zeit des Verdunstens noch flüssige Öl die Hohlräume ausfüllen kann. Mit OW-Emulsionen ist es, selbst mit allen Kunstgriffen der Dispergiertechnik, nicht möglich, über die kohärente Materie hinauszukommen, ja hier sind sogar makroskopische Hohlräume, „Leerräume", in Form von Luftblasen keine Seltenheit. Die Gegenwart irgendwelcher die Emulgierung fördernder Stoffe in der geschlossenen Phase ist hier unerläßlich und deshalb kommt es meist zu einer umfangreichen Ausbildung von Wandsubstanz. Das gilt insbesondere für solche Systeme, welche hohe Lagerstabilität aufweisen sollen. Denn Stabilisierung der Dispersion und des Filmes sind entgegengesetzte Tendenzen. Bei OW-Emulsionen werden daher häufig andere Wege eingeschlagen als die der Annäherung des Films an den Organosolfilm, der kohärenten an die kompakte Materie. So sucht man beispielsweise nicht die Wandsubstanz quantitativ zu verringern, sondern qualitativ derart zu verbessern, daß dieselbe beim Trocknen irreversibel wird und mechanisch so beschaffen ist, daß sie den Film im Sinne der Verfestigung oder der Dehnbarkeitserhöhung beeinflußt. Bei starker Ausprägung der Wandsubstanz ist die Gefahr der Bildung hydrophiler Fehlstellen damit aber nicht beseitigt. Ein anderer Weg besteht darin, die Wandsubstanz quantitativ zu verringern und die Füllsubstanz, etwa durch Einfügen kristallisierender Wachsstoffe, in ihrer Beständigkeit zu erhöhen. Schließlich aber ist noch eine Möglichkeit zu berücksichtigen, welche in einer gewollten Entmischung, einem „Brechen" der Emulsion zu gegebener Zeit, d. h. in Berührung mit einem saugenden Untergrund besteht und durch das Absaugen der wässerigen Phase die Bildung zum mindesten eines kohärenten Systems mit sehr feinen Kapillarräumen bedingt.

Die Möglichkeiten zur Erzeugung besonders gearteter Emulsionssysteme mit hoher Filmstabilität sind damit nicht erschöpft. Zunächst aber steht in denjenigen Techniken, die Emulsionen zum Zwecke der Schutzfilmbildung erzeugen, die Annäherung dieser Filme an die kompakte Materie mit Hilfe besonderer WO-Emulsionen im Vordergrund. Diese Systeme mögen zunächst kurz gekennzeichnet sein.

I. Systematik der WO-Emulsionen.

Emulsionen trocknender Öle und Organosole von Harzen, welche namhafte Mengen an Fett- oder Harzsäuren enthalten und insbesondere Verbindungen beider Stoffgruppen, wie sie z. B. in den Alkydharzen vorliegen, nehmen bei intensiver Dispergierung Wasser ohne jeglichen Emulgatorzusatz unter Bildung von WO-Emulsionen auf. Diese Emulsionen lassen sich technisch auch verarbeiten und ergeben dann Filme, die den aus den Ölen bzw. Organosolen erhaltenen praktisch durchaus gleichkommen. Beim Stehen aber koagulieren diese Emulsionen und sind dann nicht mehr verwendbar. Solche Emulsionen seien als Null-Emulsionen bezeichnet. Bei Gegenwart von mäßigen bis namhaften Mengen verseifend wirkender Emulgatoren entstehen WO-Emulsionen hervorragender Stabilität, welche daher Stabil-Emulsionen genannt seien. Die Filme dieser Emulsionen stehen an Beständigkeit und Wasserechtheit hinter denen der Öle und Organosole ganz beträchtlich zurück. Wird die Emulgatormenge auf eine geradezu homöopathische Menge verringert, so entstehen Emulsionen, welche nicht mehr koagulieren. Vielmehr zeigt sich beim Lagern eine Sedimentation, welche sich auf die geschlossene Phase beschränkt und daher reversibel ist. Durch Schütteln lassen sich diese Emulsionen spielend wieder in einheitliche Systeme verwandeln. Die Filme dieser Emulsionen, welche als Grenzemulsionen bezeichnet seien, sind um so stabiler, je weniger Emulgator vorhanden ist, also je mehr sie sich der Nullemulsion nähern. Die Sedimentation innerhalb der Ölphase fällt bezüglich des Endvolumens mit steigendem Emulgatorgehalt. Mit diesem steigt auch die Viskosität. Es gilt also hier folgendes Schema:

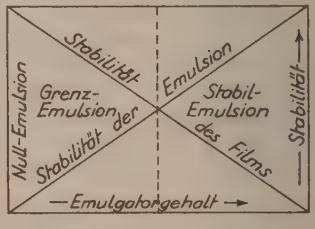


Fig. 1. Schema der WO-Emulsionen.

Im Hinblick auf die Tatsache, daß diese Grenzemulsionen, ihre Entstehung, Eigenschaften, die Zusammenhänge zwischen Emulgatorgehalt, Sedimentation, Viskosität, Schichtdicke, quantitativem Trockenverlauf, Wasserbindung

Fig. 3 Film aus Anthrazenöl-OW-Emulsion. 300 × vergr.

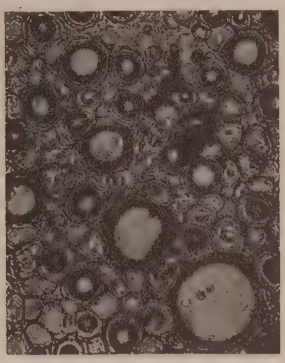


Fig. 4 Film aus Anthrazenöl-OW-Emulsion. 300 × vergr.

Fig. 5 Derselbe Film im Querschnitt nach Benzolbehandlung.

Fig. 6 Film aus Anthrazenöl-WO-Emulsion nach Benzolbehandlung.

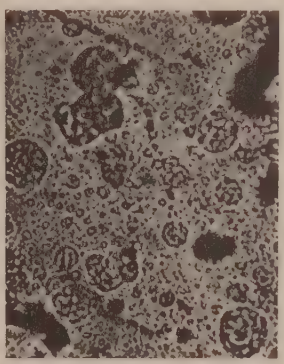


Fig. 7 Film aus Leinöl-WO-Emulsion. 300 × vergr.

Fig. 8 Kugelgele aus Leinöl-WO nach Benzolbehandlung. 100 × vergr.

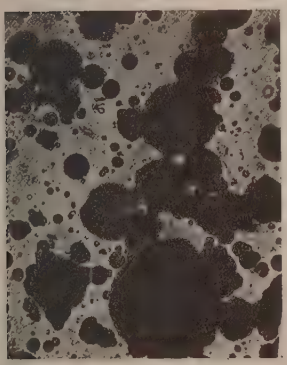


Fig. 9 Kugelgebilde aus Chlorkautschuk-OW-Emulsion. 300 × vergr.

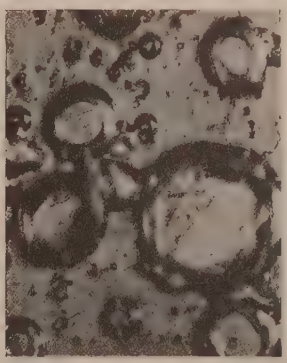


Fig. 10 Lufteinschlüsse in Chlorkautschuk-OW-Emulsion. 100 × vergr.

Fig. 11 Dieselben in Oberflächenbeleuchtung.

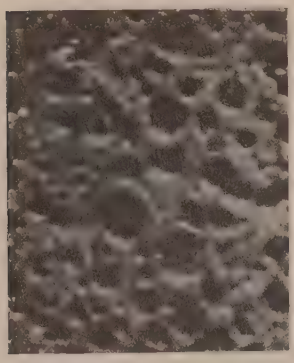


Fig. 12 Wabenschaum aus Chlorkautschuk-WO-Emulsion. 100 × vergr.

Fig. 13 Film aus Aconal-OW-Emulsion. 100 × vergr.

Fig. 14 Derselbe nach Pheno.-behandlung. 100 × vergr.

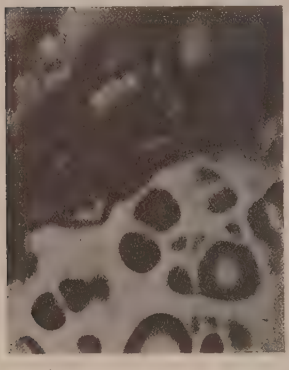


Fig. 15 Film aus Plexignon-WO-Emulsion nach Benzol-behandlung. 100 × vergr.

Fig. 16 Film aus Mowilith-OW-Emulsion. 100 × vergr.

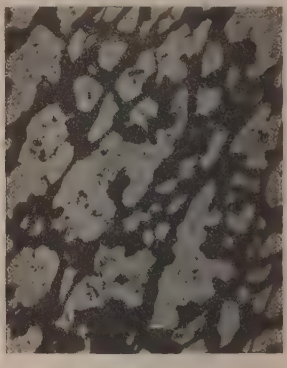


Fig. 17 Polyederschaum aus Bunatit-OW-Emulsion. 100 × vergr.

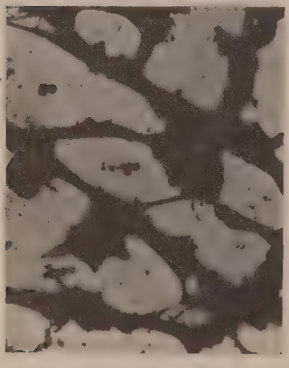


Fig. 18 Polyederschaum aus Bunatit-OW-Emulsion. 100 × vergr.

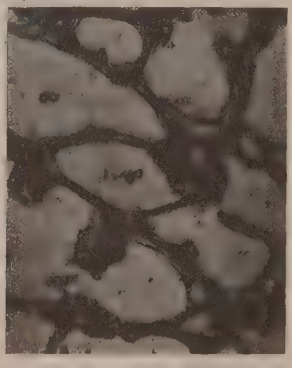


Fig. 19 Derselbe nach Benzol-behandlung. 100 × vergr.

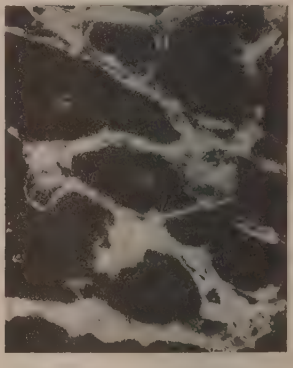


Fig. 20 Derselbe in Oberflächenbeleuchtung. 100 × vergr.

usw. an anderer Stelle[3]) eingehend erörtert sind, mögen hier nur die wichtigsten Ergebnisse zusammengefaßt sein. Diese zeigen, daß die Filme der Grenzemulsionen, wie bereits in der ersten Abhandlung erwähnt, Wasser zu binden vermögen, jedoch weniger als die Stabilemulsionen und ohne Bildung filmschädigender Strukturelemente, und daß dieses gebundene „Grenzwasser" von günstigem Einfluß auf den Verlauf der Trocknung ist. Stabilemulsionen erweisen sich im Film hygroskopisch und trocknen demnach weder in der Tiefe noch oberflächlich. Der Trockenvorgang ist also behindert. Bei der Grenzemulsion dagegen ist die Durchtrocknung verlangsamt, die Oberflächentrocknung jedoch nicht beeinträchtigt. Aus der Kurve der Gewichtszunahme beim Trocknen dieser Filme geht deutlich hervor, daß die Sauerstoffaufnahme durch die Grenzemulgierung verlangsamt ist. Betrachtet man die Trocknung als Elastizitätszunahme bis zu einem bestimmten Punkt, bei der diese umkehrt und damit die Alterung beginnt, so zeigt sich, wie auf Fig. 2 ersichtlich, daß die Grenzemulgierung eine erwünschte,

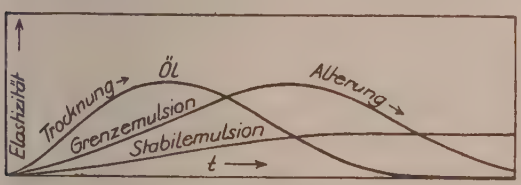


Fig. 2. Lebenslinie von Öl-Grenzemulsion und extremer Stabilemulsion.

die Stabilemulgierung eine unerwünschte Änderung der Lebenslinie[4]) des Films ergibt. Man kann diese günstige Wirkung bei der Grenzemulsion als Alterungsverzögerung bezeichnen. Daß die Grenzemulsionen noch weitere günstige Eigenschaften aufweisen, wie z. B. den der Verringerung der Runzelungsneigung der Filme und der Eisblumenbildung sowie die Erhöhung der Lagerbeständigkeit pigmentierter Systeme, selbst bei Gegenwart seifenbildender Gruppen im Pigment und die Vermeidung der Bildung harter Bodensätze, möge nebenbei erwähnt sein. Über eine theoretische Deutung der Art der Wasserbindung in Null-, Grenz- und Stabil-Emulsionen muß auf die Originalabhandlung verwiesen werden. Hier möge uns dagegen die Frage der Struktur solcher Filme beschäftigen und die Frage, ob Filmbildner anderer Art, welche keine seifenbildenden Gruppen enthalten, und vorwiegend solche kettenmolekularen Aufbaus auch Grenzemulsionen zu bilden vermögen und wie deren Filme beschaffen sind.

[3]) H. Wagner, Grenzemulsionen, Farben-Ztg. **45**, 293 (1940).

[4]) Vgl. hierzu A. V. Blom, Kolloid-Z. **54**, 210 (1931).

II. Methodik der Filmprüfung.

Emulsionen, welche mit allen Kunstgriffen des Emulgierens, Dispergierens und Homogenisierens hergestellt sind, eignen sich zum grundsätzlichen Studium der Filmbildung wenig. Sie zeigen zwar immer noch eine erkennbare Grobstruktur, aber die Deutung der Einzelelemente ist äußerst erschwert. Es ist daher zweckmäßig für die Filmuntersuchung, die Emulsionen nur durch Schütteln oder schwaches Rühren zu gewinnen und nur bei denjenigen, welche sich so nicht in einheitliche Systeme überführen lassen, eine stärkere Dispergierung zu versuchen. Zur besseren Erkennung der wässerigen Phase wird derselben stets ein zugleich als Emulgator wirkendes Schutzkolloid zugegeben, das im Film die Bildung einer deutlich erkennbaren Netzstruktur bedingt. Man verwendet beispielsweise 5proz. ammoniakalisches Kaseinsol oder eine 4proz. Lösung von zelluloseglykolsaurem Natrium (Alkylin OL). Die wässerige Phase wird durch Säureviolett angefärbt. Die nicht wässerige Phase wird mit Sudan gefärbt, trocknende Öle werden unmittelbar verwendet, Organosole von Filmbildnern in einer Konzentration und Viskosität, daß dieselbe einem leicht verlaufenden Lack entspricht, der auf Glas gestrichen nach Verdunsten der Lösungsmittel eine Schicht von etwa 20 mμ hinterläßt. Das Verhältnis der beiden Phasen läßt sich nicht festlegen. Soweit es sich um ausgesprochene Vergleiche handelt, wurden die Versuche jedoch derart angesetzt, daß, wenn OW-Emulsionen bezweckt wurden, ein Teil Organosol auf 2 Teile wässerige Lösung und, wenn WO-Emulsionen bezweckt wurden, auf 2 Teile Organosol 1 Teil wässerige Lösung kam. Beim Versuch, Grenzemulsionen herzustellen, wurden die obengenannten Schutzkolloide nur in Spuren verwendet.

Nach eintägigem Stehen und nochmaligem gutem Durchschütteln werden die Emulsionen auf Glas, auf Zinkblech[5]) und auf einen Karton gestrichen, der mit Nitrozelluloselack grundiert ist. Mit den Aufstrichen auf Glas wird die im ersten Aufsatz beschriebene Reversibilitätsprobe durchgeführt. Außerdem werden hieran die optischen Eigenschaften der Filme ermittelt. Dann wird unmittelbar im Mikroskop im Hellfeld im durchfallenden, auffallenden und gemischten Licht be-

[5]) Die auf Zinkblech erzeugten Filme werden mit der Kadmiumprobe auf Wasserdurchlässigkeit geprüft, wie in der ersten Abhandlung beschrieben.

obachtet, wozu im allgemeinen eine 100fache Vergrößerung genügt. Eine geeignete Stelle wird photographiert und dann an dieser Stelle durch Zufügen von Wasser eine Löseprobe vorgenommen. Das Wasser soll etwa bis zur Hälfte des Gesichtsfeldes eindringen. Die einzelnen Phasen der Veränderung werden beobachtet bzw. photographisch festgelegt. Dann wird an einer anderen Stelle in ganz analoger Weise die Benzollöseprobe durchgeführt. Auf grundiertem Karton werden die Anstriche so lange wiederholt, bis die Schichtdicke zu einer guten Querschnittbeobachtung genügt. Damit man diese bei einer genügend starken Vergrößerung vornehmen kann, ist Opakillumination empfehlenswert. Die Filme werden dann längere Zeit gelagert und erneut beobachtet oder einige Stunden auf 100 Grad erhitzt. Dann erfolgt erneute mikroskopische Prüfung. Zu den so erhaltenen grundlegenden Feststellungen über die Filmbildung können sich nun noch solche gesellen, welche sich auf die Adsorption der einzelnen Phasen durch den Untergrund beziehen. Für die praktische Beurteilung der Filmbildung sind solche Beobachtungen von besonderer Wichtigkeit, da es der Oberflächenschutz sehr häufig mit saugenden Werkstoffen zu tun hat. Durch das verschiedenartige Eindringen einzelner Phasen und der in ihnen gelösten oder suspendierten Stoffe können damit Schutzwirkungen ganz verschiedener Art entstehen. So können etwa in der wässerigen Phase enthaltene Silikofluoride einen mineralischen Untergrund härten und Alkalien in ihm zerstören. Dieselben Stoffe oder auch Phenolabkömmlinge können beim Eindringen in Holz eine keimtötende Wirkung entfalten usw. Zweckmäßig werden daher die Emulsionen auf eine Gipsplatte, auf eine nicht grundierte Pappe und schließlich noch auf einen Untergrund ungleichartiger Struktur, nämlich auf Holz gestrichen. Die so erhaltenen Präparate werden zersägt oder geschnitten, so daß die Beobachtung im Querschnitt möglich ist. Hierfür ist unerläßlich, daß die Einzelphasen angefärbt sind. Eine ganz besondere Bedeutung kommt dem Holztest zu[6]). Man verwendet hierzu Nadelholz mit möglichst deutlich ausgeprägtem Unterschied zwischen Früh- und Spätholzzonen und hohem Harzgehalt im Spätholz. Bei einem solchen Holz ist das weitporige Frühholz durch Wasser besonders leicht benetzbar, gefärbte wässerige Lösungen werden stark angesaugt und färben die Zellen sehr deutlich. Die Benetzung des Spätholzes ist dagegen sehr unvollkommen und eine Färbung findet kaum statt. Nicht wässerige und ganz besonders ölige Flüssigkeiten werden vom Frühholz je nach Viskosität mehr oder weniger stark adsorbiert. Öle benetzen sehr wenig, eine Färbung des Frühholzes findet fast gar nicht statt. Die Spätholzzonen werden dagegen von solchen Flüssigkeiten leicht benetzt und auch einigermaßen angefärbt. Wird eine OW-Emulsion auf Holz gestrichen, so wird das Frühholz leicht benetzt und stark angefärbt. Die Benetzung des Spätholzes durch die wässerige Phase ist ungenügend, aber auch die nichtwässerige Phase benetzt nicht genug, es sei denn, daß durch einen hohen Gehalt an alkalischen Emulgatoren eine starke Randwinkelverringerung eingetreten ist.

Der Endeffekt ist damit im allgemeinen der, daß ungleiche Zonenbenetzung eingetreten ist. Werden solche Anstriche der Bewitterung ausgesetzt, so erhält man das aus der Praxis bekannte Bild des Festhaftens der Schichten auf den Frühholzzonen und des Abplatzens entlang der Spätholzzonen. Durch WO-Emulsionen wird die Spätholzzone leichter benetzt, das im System enthaltene Wasser vermag an diesen Stellen nach außen zu verdunsten und es entsteht hier ein verhältnismäßig geschlossener Ölfilm. Auf den Frühholzzonen dagegen wird die wässerige Phase nach innen abgezogen und vermag, sofern sie genügend Festbestandteile enthält, die Poren zu füllen. Auf dieser Schicht breitet sich dann ein verhältnismäßig gut geschlossener Ölfilm aus. Sind die Phasen angefärbt, so läßt sich das Eindringen der verschiedenen Phasen in die Holzelemente im Querschnitt sehr gut feststellen, und man kann daraus wichtige Rückschlüsse auf das Wesen und die Filmbildung der Emulsion ziehen.

Auf farbenphotographischem Wege lassen sich alle diese Beobachtungen und ganz besonders der Holztest in eindringlichster Weise festhalten. Leider ist aber eine irgendwie deutliche Wiedergabe des Holztestes in Schwarz-weiß-Aufnahme unmöglich, so daß eine bildliche Darstellung hier nicht in Frage kommt.

III. Emulsionen aus trocknenden Ölen.

Beim Emulgieren von Leinöl in Kaseinsol entsteht eine OW-Emulsion mit außerordentlich feiner Verteilung, ohne daß hierfür eine besondere Dispergierung nötig wäre. Bei der bekannten, die Grenzflächenspannung besonders stark herabsetzenden und die Bildung einer Emulgatorhaut fördernden Wirkung der Seifen erstaunt das keineswegs. Immerhin ist auch hier eine netzartige Struktur deutlich erkennbar. Der Durchmesser der ölerfüllten Netzhohlräume beträgt

[6]) H. Wagner, Fette u. Seifen **48**, 412 (1941).

aber kaum mehr als 1 μ. Ob sich dabei ein einheitlicher L-Film oder ein brechender OL-Film bildet [vgl. hierzu die erste Abhandlung S. 14–15*)], hängt von der Ölkonzentration, der Ölviskosität und dem Alkaligehalt der wässerigen Phase ab. Durch Wasser wird der Film um so rascher angegriffen, je weniger Öl vorhanden ist, wobei die Netze allmählich zerstört werden. Durch Benzol wird umgekehrt durch Herauslösen des Öls die Netzstruktur deutlicher erkennbar.

Eine nähere Kennzeichnung der der wässerigen Phase entstammenden Strukturelemente, also des Netzgerüstes, ist bei einer solchen Emulsion mit einfachen Hilfsmitteln nicht möglich. Emulgiert man jedoch an Stelle des trocknenden Öles ein Mineralöl, das nicht als Filmbildner zu betrachten ist, so läßt sich die Filmbildung, soweit sie durch die wässerige Phase bedingt ist, sehr deutlich verfolgen. Prinzipiell unterscheidet sie sich nicht von der Bildung des Filmes aus Leinölemulsion, wenn man davon absieht, daß die emulgierten Teilchen hier flüssig bleiben und sich die Gelbildung nur auf die wässerige Phase erstreckt. Die Abwesenheit alkalireaktiver Gruppen bedingt eine wesentlich geringere Zerteilung der Öltröpfchen und eine Ausbildung größerer Emulgatorhüllen, so daß auch diese sichtbar werden. Bei den Emulsionen aus trocknenden Ölen ist damit zu rechnen, daß diese Hüllen monomolekular sind. Fig. 3 und 4 zeigen den Film aus einer solchen Emulsion, und zwar Fig. 3 auf die Oberfläche und Fig. 4 auf den Mittelpunkt der Öltröpfchen eingestellt. Auf Fig. 4 ist der Filmaufbau besonders deutlich erkennbar, man sieht hier die Bildung wabenförmiger Elemente und auch die Emulgatorhüllen. Auf Fig. 5 ist der Querschnitt der Anthrazenöl-OW-Emulsion nach dem Herauslösen der Öltröpfchen mit Benzol dargestellt. Man hat hier den kennzeichnenden Aufbau eines Wabenschaums, bei dem die Wandsubstanz immerhin den größten Teil des Filmraumes einnimmt. Mit abnehmendem Gehalt an Schutzkolloid tritt diese entsprechend zurück, und es kommt mehr zur Ausbildung polyedrischer Formen, wie wir sie z. B. auf Fig. 4 erkennen. Bei weiterer Verringerung der Schutzkolloidkonzentration ohne entsprechende Dispergierung der Füllsubstanz entstehen Formen, denen vermutlich auch die des Polyederschaums zugrunde liegt, die aber so stark bei der Trocknung deformiert sind, daß sie nur noch als regellose Netze erkennbar sind. Ein typisches Beispiel hierfür zeigt Fig. 1 auf Tafel I der letzten Veröffentlichung.

*) 1. Mitteilung: H. Wagner und G. Fischer, Kolloid-Z. 77, 12 (1936).

Es wurde bereits in der eben genannten Veröffentlichung erwähnt, daß in WO-Emulsionen aus fetten Ölen solche Netze nicht gebildet werden. Das ist klar, da ja hier beim Verdunsten des dispergierten Wassers flüssiges Öl vorhanden ist, das keine zähe Oberflächenhaut ergibt und damit keinen Schaum ausbildet. Bei Gegenwart von Leimstoffen im Wasser kann es aber doch immerhin zur Ausbildung eines fibrillaren Systems innerhalb der Ölphase kommen, welche netzartige Gebilde vortäuscht. Neben diesen oder in diese eingelagert, treten, wie a. a. O. beschrieben, kugelförmige Gebilde auf. Diese Gebilde wurden damals sogar an einer Emulsion beobachtet, welche als Nullemulsion bezeichnet werden muß. Allerdings sind sie in einer solchen, ebenso wie in der Grenzemulsion, nur ganz vereinzelt vorhanden, während sie in der Stabilemulsion als kennzeichnendes Strukturelement angesehen werden müssen. Das Wesen dieser Gebilde läßt sich ebenfalls an der Stabilemulsion am besten verfolgen. Im Film selbst sind sie, wie Fig. 7 zeigt, als durchscheinende, ihrerseits Gelstruktur zeigende, rundliche Gebilde erkennbar. Durch die Wasserprobe werden sie nicht verändert, bei der Benzolprobe bleiben sie nach dem Verdunsten des Lösungsmittels als Kugeln mit rauher Oberfläche zurück und erscheinen deshalb im durchfallenden Licht schwarz, im auffallenden weiß (Fig. 8). Durch Wasser werden sie, wenn freigelegt, zum Verschwinden gebracht. Auch an der Luft verschwinden sie, soferne durch Benzol freigelegt, nach einiger Zeit vollständig. Dies läßt den Schluß zu, daß es sich hier um Hydrogele handelt. Daß diese aber nicht ausnahmslos der wässerigen Phase entstammen können, beweist die oben erwähnte Tatsache, daß sie auch in emulgatorfreien Nullemulsionen vereinzelt erkennbar sind. Es muß sich demnach bei ihrer Bildung zum mindesten in der Randzone ein im Öle vorhandener karbophiler Rest beteiligen, etwa in dem Sinne, wie das in der ersten Abhandlung angedeutet wurde. Dafür spricht auch die Tatsache, daß sich diese kugelförmigen Gele in einer Grenzemulsion aus Anthrazenöl nicht bilden, in einer Stabilemulsion desselben Öles dagegen sind sie, wie Fig. 6 zeigt, erkennbar, vielfach jedoch zu schwammartigen Gebilden vereint. Die Dimensionen dieser Gele sind recht beträchtlich. Man findet sie in den verschiedensten Größenordnungen von etwa 0,5 bis 50 μ. Bei Aufstrichen der Stabilemulsionen auf saugenden Karton färbt die ölige Phase den Karton intensiv an, während die kugelförmigen Gele auf der Oberfläche gehäuft liegen bleiben und einen Anblick bieten, der dem von Fig. 8 voll-

kommen entspricht. Nach einigen Wochen sind die Gebilde aber restlos verschwunden.

Wie verhalten sich nun diese Gebilde zu dem oben erwähnten, in der Grenzemulsion adsorptiv oder wahrscheinlich chemosorptiv festgehaltenen sogenannten Grenzwasser? Zweifellos haben sie damit nichts zu tun. Es ist vielmehr anzunehmen, daß das Grenzwasser im Film unsichtbar ist und sich allerhöchstens in einer optischen Struktur äußern könnte. Eine solche wurde bisher aber noch nicht sicher beobachtet. Die Bildung der Gallerten und ihr Verschwinden im Lauf der Zeit zeigt aber, daß selbst in Null- und Grenzemulsionen gewisse, wenn auch geringe Beträge an nicht chemosorptiv gebundenem Wasser, also an „Nichtgrenzwasser", im Film verbleiben, soferne genügend hydrophile Gruppen in dem emulgierten Öl enthalten sind, um neben der Grenzwasserbindung sich noch mit den vorhandenen geringen Mengen von Emulgatoren zu wenigen dieser kugelförmigen Gebilde zu vereinigen.

Es ist weiter die Frage, ob die kugelförmigen Hydrogele als filmschädigende Anteile zu bezeichnen sind, oder ob sie, ebenso wie das Grenzwasser, durch Alterungsverzögerung eine günstige Wirkung ausüben können. Es ist zu beobachten, daß mit zunehmendem Gehalt an diesen Hydrogelen Dehnbarkeit und Rückfederung des Filmes zunehmen. Eine wesentliche Beeinflussung der Trocknung ist aber nicht festzustellen. Dagegen zeigt die Reversibilitätsprobe, daß mit zunehmendem Gehalt des Films an diesen Hydrogelen die an einer Weißfärbung erkenntliche Emulsionsrückbildung sehr stark zunimmt und der Film schließlich ganz zerfällt. Deshalb müssen diese Gebilde, soferne sie in namhaften Mengen vertreten sind, als Filmschädiger betrachtet werden. Auch von diesem Gesichtspunkt aus ist damit die Stabilemulsion im Hinblick auf die Filmbildung als ungünstig anzusehen. Das Fehlen der Hydrogele in Filmen aus Grenzemulsionen kann umgekehrt als Kriterium für deren Güte betrachtet werden.

IV. Emulsionen aus Kautschukabkömmlingen.

Wenn man OW-Emulsionen aus Lösungen von Chlorkautschuk oder chloriertem Buna (Bunalit) auf Glas streicht, so ist zu beobachten, daß die Filmbildung mit einer Ausscheidung lichtreflektierender Anteile verbunden ist, so daß die Schicht im auffallenden Licht stellenweise weiß erscheint. Die Querschnittbeobachtung zeigt, daß es sich hierbei um Gele aus dem Organosol des Lackstoffes handelt, welche vorzugsweise als zur Grundfläche parallele Linsen in den Film eingelagert sind. Es ist daraus erkennbar, daß das Organosol in der flüssigen Emulsion eine „Minimalfläche mit Nebenbedingungen" (Manegold) ausgebildet hat. Fig. 9 zeigt diese Linsen von oben als undurchlässige und daher schwarze Kreise. Sie sind, wie sich durch die Benzolprobe nachweisen läßt, in die Netze der wässerigen Phase eingebettet und werden durch Benzol allmählich durchsichtig und schließlich vollkommen gelöst. Die wegen ihrer Feinfädigkeit anfangs kaum erkennbaren Netze werden dann deutlich. Im Querschnitt treten an die Stelle der Linsen nach dem Herauslösen mit Benzol rauhkantige Hohlräume. Bei der Wasserprobe werden die Netze sehr langsam aufgelöst und zerfallen. Hierbei werden die Linsen freigelegt und verändern sich optisch teilweise derart, daß sie vom Rand her durchsichtiger werden. In einzelnen Linsen befinden sich eingeschlossene Luftblasen, die bei der Benzolprobe, wie sich unter dem Mikroskop verfolgen läßt, entweichen. Auch bei der Zersetzung der Netzgebilde durch Wasser treten zuweilen aus den Linsenagglomeraten vorher nicht sichtbare Luftblasen aus. An dicken Filmstellen finden sich erhabene, im wesentlichen aus Leimstoffen bestehende, aber mit Chlorkautschuk durchsetzte Ringe, wie sie Fig. 10 und 11 im durchfallenden und auffallenden Licht zeigt. Diese Ringe umschließen entweder eine mit einem feinen Lackhäutchen bedeckte Luftblase oder einen Hohlraum, welcher zu Beginn der Trocknung der Emulsion eine Luftblase einschloß. Das Auftreten von Luft in diesem Film muß daher als etwas Kennzeichnendes betrachtet werden, und es liegt sehr nahe, es mit der partiellen Weißfärbung des Films in Zusammenhang zu bringen.

Wesentlich deutlicher als bei Chlorkautschuk läßt sich die Bildung eines solchen partiell weißen Filmes an einer Bunalit-OW-Emulsion verfolgen. Hier treten, wie die Fig. 17—20 zeigen, so deutliche weiß gefärbte Netze auf, daß sie an dicken Filmstellen sogar mit freiem Auge erkennbar sind. Diese Netze sind allerdings nicht unbedingt für Bunalit kennzeichnend. Je nach dem verwendeten Lösungsmittel und der Konzentration erhält man alle denkbaren Übergänge von getrennten Kugeln über in Polyederreihen aggregierte Kugeln, durch Lamellen polyedrisch verbundene Kugeln bis zu rein lamellaren Netzgebilden. Daß diese Netzgebilde sowohl die festen Bestandteile der wässerigen Phase als auch den Lackkörper enthalten, läßt sich sehr schön durch die Benzolprobe nachweisen. Man kann hier unter dem Mikroskop schrittweise das Herauslösen des

		OW	WO Grenz. (emulgatorarm)	WO stabil (emulgatorreich)
Nichtfilmbildner	Anthrazenöl	Emulsion: instabil, reversibel entmischend Film: opak, schwach glänzend Filmstruktur: Wabenschaum, deutliche Emulgatorhüllen, Fig. 3—4 Wasserprobe: Freilegung der Öltröpfchen Benzolprobe: Freilegung des Wabengerüsts, Fig. 5 Dimensionen: Tropfen 5—50 μ Durchmesser, Hüllen bis 5 μ Durchmesser	Emulsion: koaguliert Film: nicht aufstreichbar	Emulsion: koaguliert Film: uneinheitlich, Öl schlierig verlaufend Filmstruktur: Leimphase bildet Kugelgerüste Wasserprobe: Gerüste partiell zerstört Benzolprobe: Gerüste freigelegt, Fig. 6 Dimensionen: Kugeln bis 60 μ Durchmesser
Kugelmolekulare Filmbildner	Leinöl	Emulsion: sehr stabil Film: opak, glänzend, Zweischichtfilm Filmstruktur: Feinstwaben in Unterschicht, Oleogel in Oberschicht Wasserprobe: Quellung der Ölschicht, Trübung, Wabenangriff Benzolprobe: Ölfilm gelöst, Waben freigelegt Dimensionen: Öltröpfchen vor dem Brechen: $< 1\mu$	Emulsion: sedimentiert reversibel Film: einheitlich, klar, Hochglanz Filmstruktur: strukturlos, höchstens zerstreute Gallertkugeln Wasserprobe: sehr schwache Trübung Benzolprobe: Film gelöst	Emulsion: sehr stabil Film: leicht opak, Glanz Filmstruktur: mit Gallertkugeln durchsetzter Ölfilm, Fig. 7 Wasserprobe: allmähliches Verschwinden der Kugeln [werdend, Fig. 8 Benzolprobe: Kugeln freigelegt, undurchsichtig Dimensionen: Kugeln 5—50 μ Durchmesser
depolymerisierte Kautschukderivate	Chlorkautschuk (Lösung in Chloroform, Benzol, Xylol)	Emulsion: sehr stabil Film: partiell weiß, Seidenglanz Filmstruktur: Kugelschaum, partieller Reflexionsfilm, Kugeln oder Linsen, Fig. 9—11,22 Wasserprobe: Kugeln bzw. Linsen freigelegt Benzolprobe: Kugeln bzw. Linsen herausgelöst Dimensionen: nach Lösungsmittel verschieden, durchschnittlich 5—60 μ Durchmesser	Emulsion: stabil Film: weiß, undurchsichtig Filmstruktur: Reflexionsfilm (siehe rechts) Wasserprobe: unverändert Benzolprobe: siehe nebenstehend Dimensionen: siehe nebenstehend	Emulsion: stabil Film: weiß, undurchsichtig, Glanz Fimstruktur: Reflexionsfilm mit Kapillar- und Leerräumen, Fig. 12 Wasserprobe: stellenweise Film angegriffen Benzolprobe: Hohlräume verschwinden, Film wird klar Dimensionen: linsenförmige Hohlräume bis 120 μ Durchmesser
	Bunalit (Benzollösung)	Emulsion: stabil Film: partiell gelblich-undurchsichtig Filmstruktur: langgezerrter Polyederschaum, Lackstoff auch in Wandsubstanz, Fig. 17 Wasserprobe: Wände zerstört, zum Teil Linsen sichtbar Benzolprobe: Lackstoff aus Wänden gelöst, diese daher durchsichtig, Fig. 18—20 Dimensionen: Polyeder-Leerräume bis 1 mm lang	Emulsion: koaguliert	Emulsion: mäßig stabil, geringe reversible Sedimentation Film: gelblich-undurchlässig, Glanz Filmstruktur: Reflexionsfilm mit Kapillar- und Leerräumen Wasserprobe: wie oben Benzolprobe: wie oben
Kettenmolekulare Filmbildner	Polystyrol (Benzollösung)	Emulsion: wenig stabil Film: partiell weiß, matt Filmstruktur: Kugelschaum mit feinen, stark agglomerierten Kugeln Wasserprobe: langsame Auflösung Benzolprobe: Film klar, wenig Polyederwände sichtbar Dimensionen: Kugeln $< 3\ \mu$ Durchmesser	Emulsion: nicht herstellbar	Emulsion: instabil, koaguliert Film: klar, glänzend Filmstruktur: einheitlich, Netzandeutung der wässerigen Phase Wasserprobe: schwache Netzung ohne Trübung Benzolprobe: Film gelöst, Netzspuren sichtbar Dimensionen: — —
	Acronal II (Ester—Benzollösung)	Emulsion: unstabil, Neigung zu Synärese mit Fadenbildung Film: opak Filmstruktur: körnige Lackkörperausscheidung, heterogen, Fig. 13 Wasserprobe: Lackkörper isoliert Benzolprobe: Lackkörper langsam gelöst, partielle Netzbildung sichtbar, Fig. 14 Dimensionen: Primärgröße der Lackkörner nicht $> 3\ \mu$	Emulsion: nicht herstellbar	Emulsion: entmischt, aber reversibel, fädig Film: heterogen, opak, matt Filmstruktur: Lackfilmartig mit netziger Durchsetzung Wasserprobe: benetzt leicht, Film getrübt Benzolprobe: Gesamtschicht gelöst Dimensionen: — —
	Plexigum KP (benzolverdünnte Handelslösung)	Emulsion: unstabil, wie Akronal Film: ungleich, zum Teil opak Filmstruktur: heterogen, feinkörnige Lackkörperausscheidung Wasserprobe: Film gelockert, Tropfenausscheidung (Weichmacher?) Benzolprobe: Lacksubstanz gelöst, sehr feine Netzstruktur erkennbar Dimensionen: — —	Emulsion: nicht herstellbar	Emulsion: entmischt reversibel Film: einheitlich, stark opak Filmstruktur: einheitlich, submikroskopisch Wasserprobe: stark benetzt, weiß Benzolprobe (und Esterprobe): Film gelöst, langsam klar, Netzspuren sichtbar, Fig. 15 Dimensionen: — —
	Mowilith N (Ester—Benzollösung)	Emulsion: mäßig stabil, sedimentiert reversibel Film: partiell getrübt, Seidenglanz Filmstruktur: feiner Kugel- bis Wabenschaum, Fig. 16 Wasserprobe: Wandschicht langsam gelöst Benzolprobe: farblos Dimensionen: Kugeln bis höchstens 5 μ Durch-	Emulsion: nicht herstellbar	Emulsion: koaguliert, M-Emulsion nach WO Film: fast klar, Seidenglanz Filmstruktur: von Netzen durchzogener Lackfilm, M-Film Wasserprobe: leicht benetzt, trüb Benzolprobe: trüb Dimensionen: — —

Lackkörpers bis zu dem Endzustand verfolgen, wo die Netze lackfrei sind und damit vollständig durchsichtig erscheinen. Übrigens sind diese Netze durchaus temperaturbeständig. Im Gegensatz zu den Hydrogelkugeln aus WO-Emulsionen fetter Öle bleiben sie bei mehrstündigem Erhitzen auf 100 Grad durchaus erhalten. Bei der Wasserprobe zerfallen die Netze sehr langsam, aber schließlich doch vollständig, wobei wiederum die linsenförmigen Gebilde frei werden, welche vom Rand her etwas aufgehellt erscheinen. Im Querschnitt ist erkennbar, daß der Lackstoff in diesen Linsen kein einheitliches Gel bildet, sondern in sehr feinen Körnern vorliegt, welche ihrerseits mit Hohlräumen durchsetzt sind. Wenn an den Stellen, wo sich im Film in die Leimnetze eingeschlossene Lacksubstanz befindet, der Untergrund verdeckt ist und die Oberfläche weiß erscheint, so ist das also eine Folge unzähliger Einzelreflexionen des einfallenden Lichtes an den Grenzflächen Luft/Chlorkautschuk bzw. Luft/Bunalit. In die äußerst feinen Hohlräume und Luftkanäle kann Wasser nur unvollkommen eindringen, und so ist es erklärlich, daß die reflektierenden Gebilde bei der Wasserprobe nur zum Teil von außen her durchsichtig werden. Nur bei solchen Gebilden, welche größere Luftblasen einschließen, ist die Durchdringung mit Wasser bis ins Innere möglich. Wir haben also im OW-Film der besprochenen Kautschukderivate ein kompliziertes Chlorkautschuk/Luft-in-Leim/Gebilde, das hinsichtlich der Luftverteilung alle Zwischenstufen zwischen feinsten Luftkanälen und makroskopischen Luftblasen aufweisen kann. Stets aber ist der Film ungleichartig und kann infolge seiner eigenartigen optischen Erscheinung als ein partieller Reflexionsfilm bezeichnet werden.

Anders bei WO-Emulsionen derselben Filmbildner. Bei der guten Emulgierfähigkeit der Organosole dieser Stoffe ist es nicht erstaunlich, daß hier, und zwar vornehmlich bei Chlorkautschuk, eine mit Spuren von Emulgator hergestellte Grenzemulsion so stabil erscheint wie eine Stabilemulsion, so daß also in bezug auf das disperse System zwischen beiden kein Unterschied besteht. Vom Film aus OW-Emulsionen unterscheiden sich diese Filme dadurch, daß sie einheitlich sind, in der ganzen Fläche Licht reflektieren und daher weiß bzw. bei Bunalit gelblich erscheinen und den Untergrund völlig zuzudecken vermögen. Es entsteht also, optisch gesprochen, ein ausgesprochener Reflexions- oder Deckfilm, der den Eindruck macht, als ob er einen weißen Füllstoff hohen Lichtbrechungsvermögens enthielte.

Bei der Wasserprobe werden solche Filme, sofern aus Grenzemulsionen hergestellt, überhaupt nicht angegriffen. Sie erweisen sich als sehr wetterbeständig. Bei Stabil-Emulsionen aber wird der Leimstoff langsam herausgelöst, der Film gelockert und hierbei stellenweise durchscheinend. In der durchscheinenden Schicht erkennt man zuweilen aus feinen Bläschen sich langsam bildende und vom Ort bewegende und dann verschwindende größere Luftblasen. Schon das beweist, daß auch hier Luft die Ursache der Reflexionswirkung sein muß. Ebenso wird das bewiesen durch die Benzolprobe, bei der der Lackstoff aufgelöst wird. Nach dem Trocknen aber tritt an dieser Stelle keine Weißreflexion mehr ein, sondern der Film bleibt völlig klar. Hier muß also die Luft während der Ausführung der Probe entwichen sein. Ein weiterer Beweis ist darin zu sehen, daß beim Aufstreichen einer solchen Emulsion auf einen saugenden Untergrund ein vollkommen klarer Film das Endergebnis ist.

Es ist nun die Frage, ob die Luft bereits in der Emulsion vorhanden ist, also ob diese schon ein Wasser-Luft-in-Lack-System darstellt, oder ob die Hohlräume erst dadurch entstehen, daß Wasser, sei es allein oder gemeinsam mit organischen Lösungsmitteln, aus dem sich bildenden Film verdunstet. An anderer Stelle[7]) wurde die Vermutung ausgesprochen, daß das Letztere zutrifft, und zwar auf Grund von Beobachtungen, daß unter gewissen Umständen im Film nicht nur größere, ebenfalls linsenförmige, aber ganz unregelmäßig verteilte Hohlräume enthalten sind, sondern sich eine ganz bestimmte Struktur ausbildet. Diese Struktur besteht wie auf Fig. 21, dargestellt, aus quer zum Film orientierten, von unten nach oben sich verjüngenden Kanälen, also gewissermaßen umgekehrten Kratern, welche auf der Filmoberfläche auf eine dünne, an diesen Stellen netzartig zerrissene Haut stoßen. Da die Erscheinung zuerst bei Chlorkautschuk beobachtet wurde, wurde die Vermutung ausgesprochen, daß die Bildung dieser Krater durch die Mizellarstruktur des Filmbildners bedingt sei, in dem die nach der Oberfläche strebenden flüchtigen Anteile eine Orientierung der Mizellen im Sinne einer Aufrichtung zur Folge hätten. Es wurde aber inzwischen festgestellt, daß andere kettenmolekularen Stoffe ähnlicher Struktur, wie Vinylharze, die Erscheinung nicht zeigen, wogegen sie bei Nitrozellulose in derselben Weise auftritt.

[7]) H. Wagner und G. Fischer, Filmuntersuchungen an Lacken und Emulsionen, Farben-Ztg. 44, 329 (1939).

Fig. 21. Querschnitt eines totalen Reflexionsfilms aus Chlorkautschuk-WO-Emulsion.

Zur Erörterung der gestellten Frage kehren wir nochmals zur OW-Emulsion zurück, und beobachten den Vorgang der Filmbildung unter dem Mikroskop. Es wird zweckmäßig eine Emulsion verwendet, die aus einer Chlorkautschuk-Chloroformlösung hergestellt ist. Man sieht zunächst die in der wässerigen Phase schwebenden völlig durchsichtigen Kugeln und weiterhin schon jetzt, besonders an Stellen, wo die Emulsion dick aufgetragen ist, größere Luftblasen mit stark lichtreflektierenden Rändern (Emulgatorhüllen). Luft ist also bereits im System. Mit beginnender Verdunstung des organischen Lösungsmittels agglomerieren die Kugeln, wobei Wabenschäume mit deutlich polyedrischen Formen auftreten. Gleichzeitig läßt die Durchsichtigkeit der Kugeln nach. Im Innern derselben sind optische Strukturen erkennbar, ja, stellenweise in größeren Kugeln sogar deutliche Lufteinschlüsse. Gegen Ende der Verdunstung werden die scharfen Umrisse der Kugeln unregelmäßig. Sie erscheinen wie von außen her angenagt und sind nur noch am Rande durchscheinend. Mit zunehmender Verdunstung des Wassers werden sie vollkommen undurchsichtig, und man erkennt dann, daß ihre Oberfläche rauh und porig ist. Der partielle Reflexionsfilm ist entstanden. Beim Betupfen mit Benzol werden die Kugeln jedoch wieder vollständig durchsichtig, und es entsteht ein Klarfilm. Dieser Vorgang ist eine Entlüftung. Aus dem beschriebenen Verhalten geht hervor, daß die Luft von Anfang an im System sein muß.

Bei der WO-Emulsion ist die geschlossene Phase zunächst auch lichtdurchlässig. Bei schlechter Emulgierung bildet die Lackphase Netze und Wabenschäume, wie sie auf Fig. 12 zu sehen sind. Nach dem Verdunsten des Lacklösungsmittels sind diese Wabenschäume vollständig undurchsichtig. Es entsteht der makroskopisch weiße, aber mit feinen Poren durchsetzte totale Reflexionsfilm. Wenn man nur wenig stärker dispergiert, so ist der Film völlig geschlossen und sind keine Poren erkennbar. Die Möglichkeit der Wabenschaumbildung aus der geschlossenen Phase einer WO-Emulsion ist eigentlich eine Selbstverständlichkeit. Es erscheint aber doch berechtigt, besonders darauf hinzuweisen, einerseits, weil trocknende Öle erst im späteren Verlauf der Trocknung eine zähe Oberflächenhaut zu bilden vermögen, und die Öltropfen bis dahin, soferne der Randwinkel klein genug ist, sich zu einer geschlossenen Schicht vereint haben, also keine Wabenbildung eintreten kann. Andererseits aber deshalb, weil häufig Wabenstruktur als Kennzeichen für das Vorhandensein von Leimstoffen in der wässerigen Phase betrachtet wird.

Es ist einleuchtend, daß mit Verlangsamung der Oberflächenhautbildung auch die Bildung des Reflexionsfilms erschwert und schließlich ganz verhindert wird. So wird sie z. B. schon durch Verwendung höher als Wasser siedender Lösungsmittel beeinträchtigt, durch Gegenwart von trocknenden Ölen, Weichmachern, ja sogar öllöslichen Emulgatoren (Emulphor FM öllöslich) ganz verunmöglicht. Auch durch die vorzeitige Absaugung der wässerigen Phase durch einen porigen Untergrund kann die Reflexionsfilmbildung, wie schon oben erwähnt, verhindert werden, weil die Bildung unendlich vieler Oberflächenhäute an den Grenzflächen Organosol/Wasser unterbleibt. Bei OW-Emulsionen ist jedoch im Falle mäßiger, das Absaugen der wässerigen Phase eben noch gestattender Porigkeit eine besondere Strukturausbildung möglich, die darin besteht, daß die oben beschriebenen Kugeln oder auch Linsen nicht mehr von der Leimphase umhüllt sind, sondern, oberflächlich kapillarkohäsiv zusammengehalten, auf der Oberfläche liegen, so daß diese den Eindruck macht, wie ihn eine aus schwach gebundenen Glaskugeln bestehende sog. Kristallfilmfläche für Lichtbildwerfung darbietet (Fig 22).

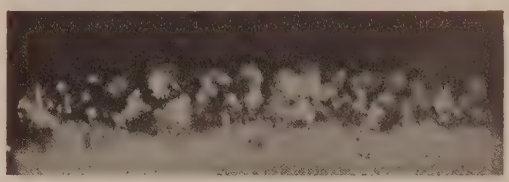


Fig. 22. Querschnitt eines partiellen Reflexionsfilms aus Chlorkautschuk-OW-Emulsion auf porigem Grund.

V. Emulsionen aus Vinylharzen.

Durch die Möglichkeit der Emulsionspolymerisation sind im Bereich der die Vinylgruppe enthaltenden Kunstharze für die Emulgierung besondere Verhältnisse gegeben. Es liegen hier die verschiedenen, praktisch emulgatorfreien

Dispersionen kettenmolekularer Stoffe verschiedenen Polymerisationsgrades vor, die teils wirkliche Emulsionen darstellen, teils aber auch Suspensionen sind. Die Filme dieser Emulsionen stellen aus Fibrillarsystemen entstandene Xerogele dar, die teils strukturlos im oben ausgeführten Sinne sind, teils optische Strukturen aufweisen, zum Teil aber auch einen an der Grenze der mikroskopischen Erkennbarkeit liegenden feinadrigen oder feinnetzigen Aufbau haben. Allen diesen Emulsionen ist die Neigung zur Synärese eigen, die es bedingt, daß sie sich nur schwer mit Füllstoffen verarbeiten lassen. Wo eine solche Verarbeitung nötig ist, wie z. B. auf dem Gebiete des Farbanstrichs, bevorzugt man daher stabilere Systeme, welche durch nachträgliches Emulgieren der Polymerisate bzw. ihrer Organosole hergestellt werden. So wird z. B. das Emulsionspolymerisat Membranit-Blaustreifen, ein Polyakrylsäureprodukt, in erster Linie zum Klarüberzug verwendet, während die Emulgierung von polymerisierten Vinyläthern in wasserlöslichen Äthern zu dem Farbenbindemittel Membranit-Rotstreifen führt. Infolgedessen zeigt die letztgenannte Emulsion bei opakem Film deutlich die oben eingehend beschriebene grobe Netzstruktur.

Die Emulgierung der kettenmolekularen Organosole ist indes wesentlich schwieriger als die der kugelmolekularen und der Depolymerisate in der Art des Chlorkautschuks. Die zur Strukturprüfung hergestellten Grobdispersionen zeigen deshalb, selbst im OW-Gebiet, eine nur mäßige Stabilität. Sie entmischen leicht, wobei der Charakter des Fibrillarsystems sich am Auftreten fädiger Gebilde deutlich zeigt. Polystyrol, das in seinen für Lackerzeugung dienenden Polymerisationsstufen meist nur das Hemikolloid erreicht, ergibt allein eine Annäherung an den partiellen Reflexionsfilm. Der Film ist als ein Kugelschaum mit feinen, von Kapillarräumen durchsetzten, stark agglomerierten Kugeln aufzufassen. Bei der Benzolprobe wird er vollständig klar, und es werden dann auch Polyederwände sichtbar. Die Emulsionen aus Polyakrylharzen sind weit weniger stabil, ihre Filme sind opak, was durch eine Ausscheidung des Lackkörpers in Form feiner, stark agglomerierter Körnchen bedingt ist. Bei der Isolierung dieser Körner durch Wasser findet bei Plexigum KP zugleich eine Ausscheidung hydrophober Tropfen statt. Möglicherweise ist bei diesem Produkt die Polymerisation bereits in Gegenwart eines Weichmachers vorgenommen. Auch die Emulsion aus dem Vinylharz Mowilith N ist wenig stabil, hat aber weit weniger die Neigung zu einer Koagulation mit Fadenbildung. Im Film ist hier Kugel- bis Wabenschaumstruktur in sehr feiner Ausbildung erkennbar[8]).

WO-Emulsionen lassen sich als Grenzemulsionen mit den hier verwendeten Organosolen nicht herstellen. Auch die nach dem Prinzip der Stabilemulsion hergestellten Systeme verdienen diesen Namen nicht. Sie entmischen allerdings, soferne aus Akrylharzen gewonnen, reversibel, lassen sich also durch Schütteln leicht wieder in Emulsionen zurückverwandeln. Auffallend ist, daß die Polystyrolemulsion, die als OW-System doch einigermaßen partiellen Reflexionsfilm zu erzeugen gestattet, in WO keinen Reflexionsfilm, sondern einen vollständig klaren, glänzenden, dem des Organosols sehr nahe kommenden Film ergibt. Die Filme aus Akryl- und Vinylharzen sind dadurch gekennzeichnet, daß sie sich durch Wasser leicht benetzen lassen und sich hierbei trüben, also zum mindesten partiell reversibel sind. Die Mowilith-Emulsion ist stark von Leimnetzen durchzogen, hieraus und aus dem übrigen Verhalten läßt sich schließen, daß das System als eine M-Emulsion aufzufassen ist, welche aber die Neigung nach WO hat.

VI. Einordnung in die Systematik der Gele.

Der Versuch, die hier beschriebenen Arten grobstruktureller Filme in ein System der Gele einzuordnen, wie es Manegold a. a. O. gegeben hat, ist dadurch erschwert, daß hier durchweg verwickelt aufgebaute Systeme vorliegen, die vielfach in sich selbst die Elemente verschiedener Gelarten vereinigen. Schon in den Emulsionen selbst liegen beispielsweise nicht immer reine Lamellarsysteme vor, da bei geringem Gehalt an emulgierten Stoffen in OW-Emulsion die Filmbildung in der Hauptsache ein Übergang eines Lyogels in ein Xerogel ist, also eine für das Fibrillarsystem kennzeichnende Umwandlung. Man kann bei OW-Emulsionen verschiedener Konzentration demnach alle denkbaren Zwischenglieder und Übergänge feststellen. Dabei ist allerdings eine Grenze dadurch gegeben, daß von bestimmter

[8]) Die Erkennung dieser Struktur ist bei Abwesenheit von Weichmacher erst nach Lösen der Lackphase möglich. Dies rührt daher, daß die Grundbedingungen zur Bildung eines Waben- oder Polyedersystems, nämlich die Umhüllung von Tropfen durch die Wandsubstanz, nur in der ersten Phase der Trocknung vorliegen. Der mit dem Verdunsten der Lösungsmittel, und zwar etwa gleichzeitig mit der Bildung der Wabenwände sich bildende Festkörper durchdringt und bedeckt die Waben derart, daß sie erstens deformiert und zweitens vor der Entfernung des Lackkörpers durch ein Lösungsmittel kaum erkennbar sind. Man könnte hier also von einer „Kryptopolyederstruktur" reden.

Konzentration des emulgierten Stoffes ab Emulgatoren und Schutzkolloide der wässerigen Phase einen Schaum zu bilden beginnen. Es ist hierbei mit Manegold unter Schaum nicht nur das Luftblasen, sondern auch das Tropfen enthaltende System zu verstehen. Ehe diese Konzentration erreicht ist, bildet der Leimstoff ein geschlossenes, nur da und dort von erstarrten Tropfen unterbrochenes Xerogel, das keine Grobstruktur aufweist, sondern als klare schwach getrübte, sehr häufig aber von Rissen durchsetzte Fläche erscheint. Ist aber die Schaumbildungsgrenze überschritten, dann steht der Entwicklung des Wabenschaums und schließlich des Polyederschaums aus dem Kugelschaum nichts im Wege. Die Endform des Systems ist dabei von der Eigenart der Filmbildner, insbesondere der Grenzflächenspannung und damit der Größe der ausgebildeten Emulgatorhüllen bedingt.

Schwerer zu übersehen sind diejenigen Systeme, bei denen sich innerhalb der dispersen Phase selbst beim Trocknen noch eine Änderung in dem Sinne vollzieht, daß aus den kugel- oder auch linsenförmigen, „Minimalflächen ohne und mit Nebenbedingungen" bildenden emulgierten Anteilen ein mit Kapillarräumen durchsetztes System kohärenter Materie entsteht. Noch schwieriger aber liegt der Fall da, wo die Wandsubstanz von Waben- oder Polyederschäumen selbst mit wasserunlöslichem Filmbildner durchsetzt ist, wie das an Filmen aus Kautschukdepolymerisaten durch die Benzolprobe nachgewiesen wurde. Hier liegt ein „echter" Schaum mit Luftblasen vor, dessen Wandsubstanz selbst ein Doppelsystem mit eingeschlossenen Lackkörperanteilen bildet.

Wenn nun Emulsionen der besprochenen Art auf porigem, wassernetzbarem Untergrund zur Filmbildung gebracht werden, so tritt eine Trennung des Systemes ein, wobei die wässerige Phase in den Untergrund entweicht. Durch dieses rasche Absaugen ist bedingt, daß die Bildung einer Haut des organischen Filmbildners verlangsamt wird, die Luft entweicht und ein Klarfilm entsteht. Geht aber bei geringer Porengröße das Absaugen des Wassers sehr langsam vor sich, so kann sich diese Haut bilden, und dann ist das Endergebnis die Ansammlung fester, kugel- oder linsenförmiger Gebilde auf der Oberfläche. So entsteht also ein aus Kugeln zusammengesetztes Korpuskularsystem, das sich als durchaus stabil erweist. Ein solches System entsteht aber auch aus einer ölhaltigen WO-Stabilemulsion, bei der auf saugendem Grund das Öl abgesogen wird und dann auf der Oberfläche die oben beschriebenen Hydrogelkugeln liegen. Es ist dies also ein intermediäres Korpuskularsystem, in dem die Leim-Festkörper durch Austrocknung in Pulver übergehen, die Kugeln also zerfallen.

So haben wir in dem Emulsionsfilm alle Möglichkeiten des Manegold'schen Gelsystems von dem am häufigsten vorkommenden Lamellarsystem über die Fibrillarsysteme bis zu den Korpuskularsystemen mitsamt einer Reihe von schwer deutbaren Zwischen- und Doppelsystemen.

Die Frage, welche Systeme die erstrebenswerten sind, läßt sich nicht allgemein beantworten. Sie hängt besonders von den mechanischen Eigenschaften der Filmbildner, von der Dispergiermöglichkeit und vor allem von dem Zweck ab, den der Film erfüllen soll. Die schon zu Anfang erwähnte Tendenz, den Film den im günstigsten Fall kompakten, im ungünstigsten Fall feinstkapillaren System der Lackfilme zu nähern, läßt sich in OW nur mit emulgatorfreien Emulsionen aus Linearkolloiden annähernd verwirklichen. Hierbei besteht aber stets Gefahr der Syneräse, und zudem erweisen sich die Filme als verhältnismäßig quellbar. In WO kommt man dem Ölfilm durch die Grenzemulgierung am nächsten, die sich aber auf trocknende Öle beschränkt. Gibt man sich mit der kohärenten Materie zufrieden und versucht ein System guter Stabilität bei gleichzeitig guter Filmstabilität zu erreichen, so ist die Erzeugung eines Lamellarsystems mit Polyederschaumstruktur mit möglichster Verringerung der Polyederdimensionen durchaus das Gegebene. Die Frage der größtmöglichen Filmstabilität ist damit nach der qualitativen Seite verlagert, worauf anfänglich schon hingewiesen wurde. In Einzelfällen wird sich auch der Reflexionsfilm als kapillarenreiche Form des Schaums als nutzbringend erweisen. Ja, sogar die Bildung eines Korpuskularsystems auf porigem Grund kann, soferne das System stabil ist, in Sonderfällen seine technische Anwendung finden.

Zusammenfassung.

Der Unterschied in der Filmbildung aus OW- und WO-Emulsionen organischer Filmbildner wird an Beispielen des Leinöls als kugelmolekularer, des Chlorkautschuks und Bunalits als teilweise depolymerisierter und der Vinylharze als kettenmolekularer Filmsubstanz erörtert. Die WO-Emulsionen werden in emulgatorarme Grenz- und emulgatorreiche Stabil-Emulsionen getrennt und deren Eigenschaften ermittelt, wobei besonders auf die durch die Grenzemulgierung mit Grenzwasserbindung erreichte durchaus günstig zu bewertende Alterungsverzögerung hingewiesen wird. Im Bereich der trocknenden Öle ergeben

sich OW-Filme kugeliger, wabiger und polyederartiger Struktur, strukturlose Grenzemulsionsfilme und WO-Stabil-Emulsionsfilme mit Hydrogeleinschlüssen. Im Bereich von Kautschukdepolymerisaten bildet sich aus OW ein partieller, aus WO ein homogener Film mit besonderen optischen Eigenschaften, der Reflexionsfilm. Er stellt ein kompliziertes Doppelsystem mit zahlreichen Kapillar- bis Leerräumen dar. Im OW-Film ist die Wandsubstanz teilweise mit organischem Filmbildner durchsetzt. Emulsionspolymerisate der Vinylgruppe weisen keine deutlichen Grobstrukturen auf und neigen zur Synärese. Stabile, emulgatorhaltige Emulsionen, welche durch nachträgliches Emulgieren der Vinylharzorganosole gewonnen sind, ergeben meist stabile QW-Emulsionen, welche durch dieselben lamellaren Bauelemente, wie die anderen Emulsionen, gekennzeichnet sind. Grenzemulsionen sind hier nicht herstellbar. WO-Stabil-Emulsionen zeigen meist reversible Entmischung und ergeben ziemlich wassernetzbare Filme Mit Hilfe der Wasser- und Benzolprobe lassen sich die einzelnen Bauelemente isolieren und untersuchen. Es wird der Versuch gemacht, die hier beschriebenen Filme in das Manegold'sche Gelsystem einzuordnen. Es finden sich Lamellar- neben Fibrillar- sowie zahlreiche gemischte Systeme. Unter Sonderbedingungen können sogar Korpuskularsysteme auftreten. Die Frage, welche Systeme die günstigsten sind, wird erörtert und im wesentlichen dem Lamellarsystem der Vorzug gegeben.

Aus dem Institut für Gerbereichemie der Technischen Hochschule Darmstadt (Direktor: Prof. Dr. A. Küntzel).

Die Gerbung mit organischen Gerbstoffen.

Von A. Küntzel (Darmstadt). (Eingegangen am 4. Juli 1942)

1. Die Gerbung mit mineralischen Gerbstoffen läßt sich, wie vor einiger Zeit in einer zusammenfassenden Darstellung an dieser Stelle[1]) gezeigt wurde, weitgehend chemisch erklären und verstehen. Sehr viel schwieriger ist es jedoch, das umfangreiche und weitläufige Gebiet der Gerbung mit organischen Gerbstoffen chemisch zu erschließen, worunter die pflanzlichen und die seit etwa 30 Jahren in Entwicklung befindlichen künstlichen Gerbstoffe zu verstehen sind. Unsere gegenwärtigen Kenntnisse über die chemische Konstitution der Pflanzengerbstoffe, die wir hauptsächlich den klassischen Arbeiten von E. Fischer und C. Freudenberg verdanken, betreffen die chemische Konstitution, nicht jedoch die eigentümliche Reaktion mit dem Gerüsteiweißkörper Kollagen, welche die Gerbwirkung, d. h. die lederartige Auftrocknung des gewachsenen Fasergeflechtes der Haut zur Folge hat. Ein Studium dieser Gerbwirkung an der Modellsubstanz Gelatine, das bei der Mineralgerbung zu Erfolg führte, verbietet sich, weil die pflanzlichen Gerbstoffe einerseits zu hochmolekular und andererseits zu reaktionsfreudig sind, um in Gelatinegele hineinzudiffundieren oder mit Gelatine in gelöster Form zu homogenen Lösungen oder Gelen gebracht werden zu können. Damit entfällt die Möglichkeit, mit optischen Methoden den Einfluß der Gerbreaktion auf Farbe, Lichtbrechung, optische Aktivität usw. der Komponenten zu verfolgen, eine Methode, die besonders im Falle der Chromgerbung zu wichtigen Erkenntnissen führte[2]).

Bei den organischen Gerbstoffen bleibt als Methode der Beurteilung ihres Gerbvermögens nichts weiter übrig als der Gerbversuch selbst, dessen Ergebnis ein mehr oder weniger lederähnlich aufgetrocknetes Stück tierischer Haut ist, während ein ungegerbtes Stück Haut pergamentartig-durchsichtig auftrocknet. An dem Versuchsleder gibt es nicht viel zu messen; seine Beurteilung ist eine durchaus subjektive Angelegenheit, was nichts gegen die Brauchbarkeit des Gerbversuches in der Hand erfahrener Leute besagt. Leider ist aber das Resultat dieser Beurteilung nur mit vagen Beschreibungen der Weichheit, Fülle, Farbe usw. des Leders, nicht dagegen mit exakten Meßgrößen wiederzugeben. Die einzige quantitative Messung, welche in diesem Bereich durchgeführt werden kann, beschränkt sich auf die mengenmäßige Feststellung des aufgenommenen Gerbstoffes. Bei der sogenannten quantitativen Gerbstoffbestimmung bringt man die zu untersuchende Gerbstofflösung mit Hautpulver zusammen und bezeichnet die von diesem adsorbierte Substanzmenge als Gerbstoff. Da nun aber die Hautsubstanz ein sehr unspezifisches Adsorbens ist und auch andere Stoffe als Gerbstoffe adsorbiert, z. B. Säuren aller Art, Farbstoffe, Fettstoffe aus wässerigen Emulsionen u. dgl. m., so ist

[1]) A. Küntzel, Kolloid-Z. **91**, 152 (1940).

[2]) A. Küntzel und C. Rieß, Collegium **1936**, 138.

diese Methode nur dann vernünftig, wenn man sich auf andere Weise davon überzeugt hat, daß die adsorbierte Substanz auch tatsächlich zur Lederbildung fähig ist und sich damit als Gerbstoff im eigentlichen Sinne erweist. Es ist hier nicht möglich, ausführlicher auf die Fragen der qualitativen und quantitativen Gerbstoffbestimmung näher einzugehen[3]), doch sei bemerkt, daß das Fehlen verläßlicher quantitativer Bestimmungsmethoden für das Gerbvermögen von Gerbstoffen nicht auf Ideenlosigkeit oder Gleichgültigkeit der Gerbereichemiker, sondern auf der Eigentümlichkeit des biologisch entstandenen Materials, der tierischen Haut, beruht, mit dem es der Gerber zu tun hat.

2. Ungeachtet der angedeuteten Schwierigkeiten lassen sich jedoch über die Gerbung mit organischen Gerbstoffen gewisse grundlegende Tatsachen angeben, welche dem Chemiker die Gerbreaktion verständlich werden lassen. Diese Tatsachen sind nach zwei Gesichtspunkten zu ordnen, indem man einmal von einer kolloidchemischen Beobachtungsweise, das andere Mal von rein chemischen Fragestellungen ausgeht. Unter die kolloidchemische Betrachtungsweise fallen alle Fragen, die mit der Struktur der Haut bzw. der kollagenen Faser zusammenhängen. Die Hautfaser kann als ein Gel bezeichnet werden, in welchem der Gerbstoff auf Grund langwieriger Diffusionsvorgänge zur Verteilung gelangt. Diese Diffusion wird durch Quellungs- und Entquellungsvorgänge der kollagenen Faser verzögert oder begünstigt.

Daneben ist aber auch zu erörtern, in welcher Weise eine Bindung zwischen Gerbstoff und dem Eiweißmolekül der Hautfaser zustande kommt; das ist die chemische Fragestellung der Gerbungsreaktion, bei der die Fragen der Teilchengröße, der Diffusion in das Eiweißgel der Hautfaser usw. in den Hintergrund treten und die chemische Konstitution des Gerbstoffmoleküls, welche die Voraussetzung für eine Wechselwirkung mit dem Eiweißmolekül ist, in den Vordergrund tritt.

Daß die beiden angegebenen Gesichtspunkte für die Erkenntnis des Gerbproblems erforderlich sind, geht aus folgender Überlegung hervor. Gerbbar im Sinne von Lederherstellung ist nur das Kollagenfasergeflecht der Haut. Bei einer einzelnen kollagenen Faser, noch mehr aber bei löslichen Eiweißkörpern, die ebenfalls mit den Gerbstoffen reagieren, verliert das Wort gerben, wenn man es in dem obengenannten Sinne anwendet, seinen Sinn, da eine einzelne „gegerbte" Faser ebensowenig ein Leder darstellt wie das amorphe Fällungsprodukt zwischen löslichen Eiweißkörpern und Gerbstoffen. Andererseits sind die Valenzbeziehungen zwischen löslichen Eiweißkörpern, z. B. Gelatine und Gerbstoffen, bestimmt die gleichen wie diejenigen, die bei der technischen, sich auf das geformte Kollagenfasergeflecht der Haut beschränkenden Gerbreaktion auftreten.

3. Was die kolloidchemische Seite der Gerbungsreaktion betrifft, so ermöglichen die Kenntnisse der Struktur der kollagenen Faser, über die wir an dieser Stelle kürzlich zusammenfassend berichteten[4]), den Zugang zur Kenntnis der Struktur der Lederfaser; denn die Lederfaser ist strukturmäßig weitgehend identisch mit der kollagenen Faser, nur daß sie mit dem Gerbstoff imprägniert erscheint, wobei der Gerbstoffanteil im optimalen Falle bis zu 50 Proz. des Gewichtes der (wasserfreien) Lederfaser ausmacht. Die Imprägnierung der kollagenen Faser mit Gerbstoff hat überraschend wenig Einfluß auf die Faserstruktur, soweit sie durch mikroskopische Untersuchung erkannt werden kann. Die Gerbung ist daher als eine ausgezeichnete Fixierung von bindegewebigen Strukturen zu verwenden, die man für eine histologische Untersuchung in Mikrotomschnitte zerlegen will. Der Einfluß der Gerbung äußert sich also nicht in einer Änderung der eigentlichen Struktur, sondern vielmehr in einer Unempfindlichkeit gegen die quellende Wirkung von Säuren, gegen die Abbauwirkung von Fermenten und in dem geänderten physikalischen Verhalten beim Auftrocknen des Fasergeflechtes, worin ja der wesentlichste Effekt der Gerbung besteht.

Die mikroskopische Untersuchung scheint zu dem Ergebnis zu führen, daß der Gerbstoff in der Faser nach Art einer festen Lösung homogen verteilt sei. Das ist aber sicher nicht der Fall. Die Durchgerbung der Faser macht bestimmt vor den gittermäßig geordneten Bereichen der Molekülanordnung, über welche das Röntgendiagramm Auskunft gibt, Halt. Das beweist die Tatsache der Einflußlosigkeit der Gerbreaktion auf das Röntgenbild. Aber auch die weniger geordneten Molekülbereiche der Faser, die als mehr gelatineähnlich zu bezeichnen sind, sollten auf Grund der Erfahrungen des Verhaltens von Gerbstofflösungen gegenüber Gelatinegelen nur an der Oberfläche angegerbt sein. Denn die Gerbstoffe vermögen nicht in Gelatinegele einzudringen, werden vielmehr an der Geloberfläche quantitativ abgefangen. Wenn Gerbstoffe hingegen in die Haut hineindiffundie-

[3]) A. Küntzel, Gerbereichemisches Taschenbuch, 5. Aufl. (Dresden und Leipzig 1942). [In Vorbereitung.]

[4]) A. Küntzel, Kolloid-Z. **69**, 273 (1941).

ren, dann stehen hierfür die Spalte und Zwischenräume zwischen den einzelnen Fasern zur Verfügung, die um so weiträumiger sind, je weniger die Fasern zur Quellung gebracht wurden. Begünstigt wird dieser bei dicken und festgebauten Häuten sehr zeitraubende Diffusionsprozeß durch den Umstand, daß die Gerbwirkung die charakteristische Säurequellung der kollagenen Faser, welche durch organische Gärungssäuren oder durch zugesetzte Mineralsäuren hervorgerufen wird, unterbindet, bzw. daß in Gerbstofflösungen in gewissem Maße eine Entquellung der säurequollenen Hautsubstanz erfolgt. Es ist hierbei hervorzuheben, daß die entquellende, auch adstringierend genannte Wirkung der Gerbung auf die Hautfaser nur die Verdickung der Faser vermindert, nicht aber auf die Länge der Faser einen Einfluß ausübt.

Nicht ohne Grund bedient man sich des Wortes adstringieren (= anspannen, zusammenziehen) zur Kennzeichnung der Gerbwirkung, womit vor allem der physiologisch-pharmazeutische Effekt der als Heilmittel bei Darminfektionen, „bei Brandwunden u. a. m. benutzten Pflanzengerbstoffe charakterisiert werden soll. Man bezeichnet damit auch die eigentümliche zusammenziehende Wirkung von Gerbstoffen auf die Mundschleimhaut, die mit einem nicht unangenehmen säuerlich-bitteren Geschmack verknüpft ist. Es sei hier erwähnt, daß auch bei der technischen Lederbereitung von einem adstringierenden Effekt der Gerbstoffe gesprochen wird, worunter man das sogenannte Narbenziehen versteht: die von den Haaren befreite Haut verliert bei der Angerbung mit stark wirksamen Gerbstoffen ihre ursprüngliche Glätte und kräuselt sich unter leichter Faltung der Oberflächenschicht, welche als der Narben des Leders bezeichnet wird. Dieses Narbenziehen tritt am deutlichsten bei mechanischer Bewegung der Häute auf. Eine naheliegende Theorie für diese Erscheinung bringt sie mit dem zusammenziehenden Geschmack der Gerbstoffe in Zusammenhang, so als ob bei der Gerbung sich gewisse Faserstränge innerhalb des Hautfasergeflechtes verkürzten und dadurch eine faltige Kontraktion des übrigen, weniger intensiv verkürzten Fasergewebes verursacht würde. Wie jedoch Messungen über die Längenänderung von Kollageneinzelfasern in Gerbstofflösungen gezeigt haben, ist diese Vorstellung falsch. Eine unmittelbare Faserverkürzung durch die Gerbstoffaufnahme findet nicht statt. Die erwähnte Faltung der Narbenmembran ist vielmehr entweder die Folge einer Fixierung des Hautfasergeflechtes in der gefalteten Form, die durch mechanisches Ziehen und Knicken der Haut bei der Gerbung in bewegten Systemen (rotierende Fässer u. dgl.) herbeigeführt wird, oder — bei ruhenden Gerbsystemen — die Folge einer Entquellung der inneren Hautschichten im Laufe des Gerbprozesses, nachdem zuvor die Narbenmembran in einem durch die Hautquellung gespannten und gedehnten Zustand gegerbt und damit fixiert worden war. Wenn der Gerber empirisch feststellt, daß gewisse Gerbstoffe diese Fixierung begünstigen und wenn er daraufhin jene Gerbstoffe als adstringenter bezeichnet als die übrigen, so ist zwar der Narbenzug durch die Vorstellung von sich zusammenziehenden Fasern anschaulich gedeutet; richtiger ist es jedoch, den adstringenteren Gerbstoff als gerbaktiver, d. h. reaktionsfreudiger zu bezeichnen. Denn er reagiert mit den Fasern so schnell, daß letztere im deformierten Zustand versteift werden.

Zurückkommend auf die Frage der Durchgerbung der Haut ist es ziemlich schwierig, sich ein klares Bild von der Art und Weise zu machen, wie die Gerbstoffe in die Faser selbst eindringen. Es müssen hier ebenfalls Spalten angenommen werden, die zwischen den feineren, durch eine Art Kittsubstanz verklebten Teilelementen der Faser (Fibrillen) vorhanden sind bzw. sich infolge der entquellenden (adstringierenden) Wirkung der Gerbstoffe im Laufe der Gerbung auftun. Man hat sogar Grund zur Annahme, daß bestimmte kleinteilige Gerbstofffraktionen in die weniger geordneten Molekülbezirke eindringen, welche den Intermizellarräumen des Frey-Wyssling'schen Strukturschemas der Faser (mizellarer Faseraufbau aus durchlaufenden Fadenmolekülen) entsprechen. Die Bezirke, an deren Grenze das Vordringen der Gerbstoffe ein Ende findet, wären in diesem Falle die „Mizellen", das sind die gittermäßig geordneten Bezirke der Fibrillen.

Zerlegt man eine Gerbstofflösung durch Membrandialyse in 2 Fraktionen verschiedener Teilchengröße, so gelangt man zu verschiedenen Ergebnissen, wenn man die beiden Fraktionen nacheinander in der einen oder der anderen Reihenfolge auf die Hautsubstanz einwirken läßt. Gerbt man mit der kleinteiligen zuerst und mit der grobteiligen Fraktion zuletzt, dann erhält man eine hohe Aufnahme von unauswaschbarem Gerbstoff. Umgekehrt, läßt man zuerst den grobteiligen und dann den feinteiligen Anteil zur Einwirkung auf die Hautsubstanz gelangen, so ist der Gehalt des Lederpulvers an unauswaschbarem Gerbstoff gering. Gerbt man mit beiden Fraktionen gleichzeitig, d. h. mit einer ursprünglichen undialysierten Gerbstofflösung, dann erhält man eine Aufnahme, die zwischen den beiden bei fraktionierter Gerbung erhaltenen Zahlen zu liegen kommt[5]). Dieser Befund ist mit der Vorstellung eines Systems sich von außen nach innen zunehmend verengernder Spalte und Diffusionsräume innerhalb des Fasermaterials am einfachsten zu deuten.

Wieviel Platz innerhalb der Faser für die Ablagerung von Gerbstoffen vorhanden ist, geht aus der hohen Aufnahmefähigkeit des Kollagens für organische Gerbstoffe hervor. Ein satt gegerbtes Leder besteht etwa zur Hälfte aus Gerbstoffen und zur anderen Hälfte aus der ursprüng-

[5]) A. Küntzel, Collegium **1934**, 765.

lichen Eiweißsubstanz. Das gleiche erkennt man noch deutlicher aus dem Umstand, daß sich innerhalb der Faser und weitgehend ungestört durch die Eiweißmoleküle, welche die Faser aufbauen, kristallisierende Stoffe zur Ablagerung bringen lassen. Bei Ledern, die lange in einer Brühe mit pflanzlichen Gerbstoffen von der Klasse der Ellagengerbstoffe gegerbt worden sind, beobachtet man zuweilen Abscheidungen von kristallisierter Ellagsäure in Leder, die durch fermentative Zersetzung der Gerbstoffe innerhalb des Leders entstanden ist. Findet die Abspaltung der Ellagsäure in der Gerbbrühe statt, so bildet sich in dem Gerbgefäß ein kristalliner Schlamm von Ellagsäure. Tritt diese Abspaltung jedoch erst ein, nachdem das Gerbstoffmolekül in die Haut eingedrungen ist, so bilden sich kristalline Abscheidungen im Leder (Fig. 1), jedoch nicht zwischen den Fasern, sondern in der Weise, daß ein Kristallnest von Fasern in verschiedener Richtung durchsetzt wird, und daß die Räume, die zur Ablagerung dieser Kristalle zur Verfügung stehen, die feineren submikroskopischen Interfibrillar- und Intermizellarräume der Faser selbst sein müssen (Fig. 2).

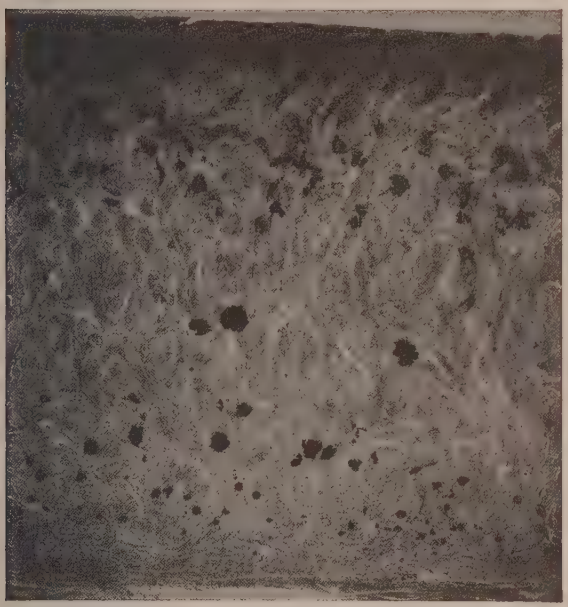


Fig. 1. Schnitt durch grubengegerbtes Sohlleder (80 μ dick) mit Ellagsäureabscheidungen. Vergr. 12,5 ×.

Fig. 2. Lederanschnitt (naß) mit angeschnittenen Ellagsäureabscheidungen (Vergr. 50 ×). Man beachte, daß diese Abscheidungen innerhalb der Fasern und nicht zwischen den Fasern auftreten.

Man gewinnt durch diese Beobachtung ein Bild von der Größe dieser Räume und von der Freiheit, mit der sich die in die Faser hineindiffundierten organischen Stoffe daselbst bewegen können[6]).

4. Wendet man sich den chemischen Fragen der Gerbreaktion zu, so ist es zweckmäßig, statt von den hochkomplizierten oxydations- und aggregationsfreudigen Naturgerbstoffen, die außerdem durch begleitende Fermente leicht verändert werden können, von einfacher gebauten künstlichen Gerbstoffen auszugehen. Daß sich die dem Gerbstoffproblem zugewandten Forscher bisher ausschließlich der schwierigen Konstitutionsermittlung der natürlichen Pflanzengerbstoffe widmeten und von den Möglichkeiten der modellmäßigen Gerbung mit elementar gebauten Grundkörpern, die in der Chemie der synthetischen Gerbstoffe eine Rolle spielen, keinen Gebrauch machten, liegt z. T. daran, daß die genannten Forscher die Gerbstoffe als Naturstoffe an sich, d. h. ohne Beziehung zu der gerbtechnischen Nutzbarmachung, untersuchten, z. T. aber auch daran, daß die nahe Beziehung zwischen pflanzlichen Gerbstoffen und synthetischen Gerbstoffen nicht richtig erkannt worden ist. Hieran ist die Anschauung der Gerbereipraxis schuld, daß künstliche Gerbstoffe grundsätzlich andere Gerb-

[6]) A. Küntzel und A. Schäfer, Collegium **1936**, 571.

stofftypen sind als die pflanzlichen Naturgerbstoffe. Es unterliegt jedoch keinem Zweifel, daß die Grundvorgänge der Gerbreaktion bei natürlichen und synthetischen Gerbstoffen die gleichen sind. Die Grundkörper der künstlichen Gerbstoffe sind das Phenol und das Kresol, die der natürlichen Gerbstoffe sind Oxyphenole (Resorcin, Brenzkatechin, Pyrogallol) und deren Carbonsäuren (Protokatechinsäure, Gallussäure). Es liegt daher nahe, das Phenol selbst als den typischen Grundkörper der organischen Gerbstoffe überhaupt anzusehen, und tatsächlich zeigt sich, daß das einfache Phenol mit Kollagen in einer Weise reagiert, welche auch das Reaktionsvermögen der kondensierten Phenole, die den Charakter von Gerbstoffen haben, verstehen läßt[7]).

Bemerkenswert ist zunächst die außerordentliche große Adsorptionstendenz des Kollagens gegenüber Phenol (Tabelle I). Bereits bei einer 5proz. Gleichgewichtskonzentration werden von 2,5 g Hautpulver aus 50 cm³ wässeriger Phenollösung bei 24stündiger Kontaktzeit 0,6 g Phenol auf 1 g Hautpulver aufgenommen. Man erhält also ohne Schwierigkeiten Aufnahmewerte, welche denjenigen der pflanzlichen Gerbung entsprechen. Auch ist mit der Aufnahme des Phenols eine Art Gerbeffekt verbunden, was daraus hervorgeht, daß das mit Phenollösung behandelte Hautpulver besser filtrierbar ist als das wassergequollene Hautpulver. Eine echte Gerbung findet jedoch nicht statt, weil die Aufnahme des Phenols durch das Kollagen reversibel ist und weil mit einer höheren Phenolaufnahme eine Verleimung des Kollagens Hand in Hand geht.

Die Verleimung des Kollagens bedeutet die Aufhebung der Gitterverbindungen zwischen den Kollagenmolekülen, die entweder durch Temperaturerhöhung bis zum Schmelzpunkt des kristallinen Anteils des Kollagens oder auch durch ein „Lösungsmittel" hervorgerufen wird, d. h. durch Stoffe, zu denen das Kollagenmolekül eine stärkere Affinität hat, als sie die Kollagenmoleküle unter sich besitzen[8]). Da man zu der Annahme berechtigt ist, daß der gittermäßige Zusammenhang der Kollagenmoleküle untereinander durch Peptidgruppen bewirkt wird, die über eine Wasserstoffbindung miteinander in Wechselwirkung stehen, so kann man die Hypothese aufstellen, daß die Peptidgruppe des Kollagenmoleküls die Affinitätsstelle zu dem Phenolmolekül ist, wobei zunächst die an der Faseroberfläche freiliegenden Peptidgruppen besetzt werden und erst bei höherer Konzentration ein Eindringen in die eigentlichen Gitterräume erfolgt, was eine mehr oder weniger weitgehende Erniedrigung der Verleimungstemperatur zur Folge hat, bis schließlich bei etwa 7- bis 8proz. Phenollösung das Kollagen bereits bei Zimmertemperatur verleimt.

Tabelle I.

Adsorption von Phenol durch Hautpulver.

ursprüngl. wässerige Phenollösung		mit Hautpulver behandelte Phenollösung		
Phenol in Proz.	g Phenol auf 1 g Hautpulv.	Phenol in Proz.	g Phenol auf 1 g Hautpulv.	adsorb. Phenolmenge auf 1 g Hautpulv.
2,008	0,4017	1,795	0,3590	0,0427
3,897	0,7794	2,977	0,5954	0,1840
5,857	1,1715	3,921	0,7842	0,3873
7,794	1,5588	4,792	0,9585	0,6003

Adsorption von Brenzkatechin durch Hautpulver.

ursprüngl. wässerige Brenzkatechinlösung		mit Hautpulver behandelte Brenzkatechinlösung		
Brenzkatechin in Proz.	g Brenzkatechin auf 1 g Hautpulv.	Brenzkatechin in Proz.	g Brenzkatechin auf 1 g Hautpulv.	adsorb. Brenzkatechinmenge auf 1 g Hautpulv.
2,039	0,4078	1,812	0,3624	0,0454
3,9938	0,7987	3,4839	0,6978	0,1009
6,004	1,2009	5,155	1,0310	0,1699
7,947	1,5895	6,7413	1,3482	0,2413
9,970	1,9940	8,4975	1,6995	0,2945
15,03	3,068	12,90	2,580	0,4880

Adsorption von Resorcin durch Hautpulver.

ursprüngl. wässerige Resorcinlösung		mit Hautpulver behandelte Resorcinlösung		
Resorcin in Proz.	g Resorcin auf 1 g Hautpulv.	Resorcin in Proz.	g Resorcin auf 1 g Hautpulv.	adsorb. Resorcinmenge auf 1 g Hautpulv.
1,076	0,2153	0,9045	0,1809	0,0344
1,712	0,3424	1,456	0,2912	0,0512
4,236	0,8436	3,693	0,7386	0,1050
6,336	1,2672	5,361	1,0722	0,1950
8,440	1,6880	7,115	1,4230	0,2650

[7]) A. Küntzel und M. Schwank, Collegium **1940**, 489.

[8]) A. Küntzel, Stiasny-Festschrift **1937**, 191.

Tabelle II. Doppelbrechung und Verleimungstemperaturen von Kollagenfasern in wässerigen Phenollösungen.

Phenollösung in Proz.	Doppelbrechung	Verleimungstemperatur °C
1	positiv	66
2	positiv	63
3,5	positiv	—
4	schwach negativ	60
5	negativ	57
6	negativ	51
7		allmähliche Verleimung bei Zimmertemperatur
8		
Resorcinlösung in Proz.		
2	positiv	67
4	positiv	65
6	positiv	63,5
8	schwach negativ	61
10	negativ	59
15		54,5
20		47
25		42
30		41*)
Brenzkatechinlösung in Proz.		
5	positiv	60,5
8	positiv	—
10	negativ	53,5
15	negativ	45,5
20	negativ	44

*) bzw. allmähliche Verleimung bei Zimmertemperatur.

Brenzkatechin und Resorcin setzen die Verleimungstemperatur des Kollagens nicht in demselben Maßstab herab wie Phenol. Durch die Einführung der zweiten phenolischen Hydroxydgruppe ist die Löslichkeit in Wasser gestiegen und zugleich die Affinität zu Kollagen vermindert, was sich auch in einer verringerten Adsorption ausdrückt (Tabelle I, Fig. 3 und 4).

Außer der Herabsetzung der Verleimungstemperatur des Kollagens wirkt sich der Einfluß des Phenols auf Kollagen noch in einer sehr auffälligen Änderung der optischen Eigenschaften der kollagenen Faser aus: die positive Doppelbrechung wird in eine negative umgekehrt. Dieser Effekt wurde bereits von V. v. Ebner[9]) entdeckt, dessen Arbeiten über die optische Anisotropie der tierischen Gewebe als klassisch zu bezeichnen sind. Diese Umkehr der Doppelbrechung tritt bei einer Adsorption von 0,2 g Phenol auf 1 g Hautpulver in Erscheinung. Bei geringerer Phenoladsorption findet lediglich eine Schwächung der positiven Doppelbrechung, bei stärkerer ein Steigen der negativen Doppelbrechung statt. Dieser Effekt ist auf den orientierenden Einfluß, den die geordnete räumliche Gitteranordnung des Kollagens auf die adsorbierten Phenolmoleküle ausübt, zurückzuführen. Die orientiert adsorbierten Phenolmoleküle rufen eine in bezug auf die Faserachse negative Doppelbrechung hervor, welche die positive Doppelbrechung der eigentlichen Faser überkompensiert. Durch Erwärmung der phenolgetränkten Faser auf 40—60° C verschwindet der negativierende Effekt, und es tritt wiederum die positive Eigendoppelbrechung der Faser auf. Diese Beobachtung findet ihre Erklärung darin, daß die Orientierung der adsorbierten Phenolmoleküle beim Erwärmen aufgehoben wird. Auch durch starkes Deformieren der phenolgetränkten Faser, am einfachsten durch Quetschen mit einer Nadel quer

[9]) V. v. Ebner, Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien, Math. u. Naturwiss. Kl. **103**, 162 (1894).

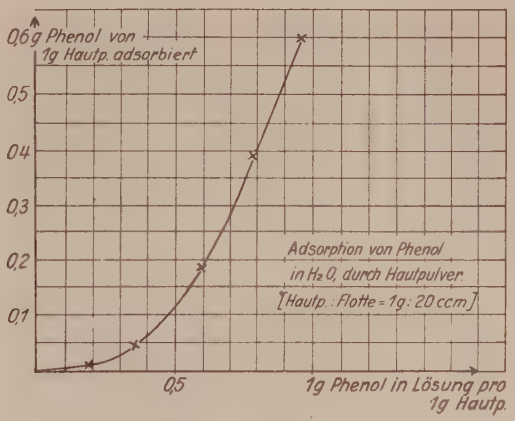


Fig. 3

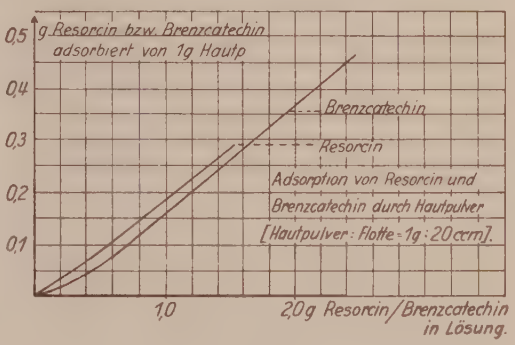
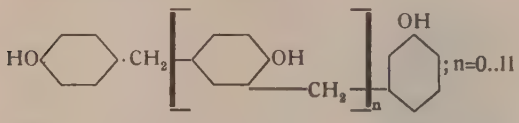


Fig. 4

zur Faserrichtung, läßt sich die negative Doppelbrechung aufheben: hierbei wird ebenfalls die Orientierung des adsorbierten Phenols gestört. Diese Umkehr der Doppelbrechung durch Phenol steht in engster Beziehung zu der bei gewissen pflanzlichen Gerbstoffen, z. B. bei Sumach, beobachteten Umkehr der Doppelbrechung der Kollagenfaser. Auch mit Resorcin und Brenzkatechin tritt eine Umkehr der Doppelbrechung auf.

5. Man kommt vom Phenol sehr leicht zu einem Gerbstoff, der sich auf technisch einwandfreie Weise verwenden läßt, wenn man mehrere Phenolmoleküle durch Methylenbrücken miteinander verknüpft. Derartige kondensierte Methylenphenole liegen bekanntlich im Novolak vor, dessen allgemeine Formel



ist[10]). Der Polymerisationsgrad bei einem Novolak, der aus der Kondensation von 1 Mol Phenol mit 0,5 Mol Methylenverbindung (Formaldehyd, Hexamethylentetramin u. dgl.) gewonnen wird, variiert von etwa 2—13. Bereits das einfachste Polymere des Novolaks, das Dioxydiphenylmethan, hat die Wirkung eines Gerbstoffes, was wegen der leichten Kristallisierbarkeit dieser Verbindung und wegen der Überführbarkeit in ebenfalls gut kristallisierende Derivate von besonderer Bedeutung ist.

Der Phenolnovolak scheint nun insofern der üblichen Definition eines Gerbstoffs zu widersprechen, als von den Gerbstoffen Wasserlöslichkeit gefordert wird, da das Kollagen nur dann für die Lederbildung geeignet zu sein scheint, wenn es hydratisiert ist. Man kann jedoch durch einen Kunstgriff den Novolak zur Gerbung bringen, indem man Kollagenstücke in Alkohol entwässert und danach in eine alkoholische oder azetonische Novolaklösung bringt und endlich nach genügender Durchtränkung mit der Novolaklösung das Kollagenstück mit Wasser nachbehandelt. Der erste Schritt der Durchtränkung des Kollagens mit der organischen Novolaklösung dient dazu, den Gerbstoff lediglich an die Faser heranzubringen; die eigentliche Gerbung findet erst in der zweiten Stufe statt. Nach dieser Behandlung trocknet das Kollagen in technisch einwandfreier Weise lederartig auf und zeigt auch im übrigen die charakteristischen Kennzeichen einer echten Gerbung (Unauswaschbarkeit des Gerbstoffes, Unempfindlichkeit gegen eiweißabbauende Fermente und Mikroorganismen usw.). Bemerkenswert ist nun, daß die charakteristischen Begleiterscheinungen der Phenoladsorption durch Kollagen, die Umkehr der Doppelbrechung und Verleimung der Faser bei der beschriebenen Behandlung des Kollagens mit kondensierten Phenolen unterbleibt. Das erklärt sich teils mit der geringeren Tiefenwirkung der Kondensationsprodukte bei der Diffusion in das Gittersystem der Faser, teils mit dem Ausbleiben einer Orientierung der von der Faser gebundenen phenolischen Verbindungen, hauptsächlich aber damit, daß bei der Verwendung kondensierter Phenole jedes Phenolmolekül des polymeren Produktes offenbar für sich durch eine Bindungsstelle (Peptidgruppe) des Kollagenmoleküls festgehalten wird, was eine Vernetzung der Eiweißmoleküle zur Folge hat. Wie das auch bei der Mineralgerbung der Fall ist, genügt eine Vernetzung der gittermäßig ungeordneten Molekülbereiche der Faser, um den Gerbeffekt in Erscheinung treten zu lassen[11]).

Gegen diese Schlußfolgerungen aus dem Vergleich der Einwirkungen von Phenol und Dioxydiphenylmethan auf Kollagen kann der Einwand erhoben werden, daß die Einwirkung des Phenols unmittelbar aus der wässerigen Lösung erfolgt, während diejenige des Dioxydiphenylmethans zunächst in alkoholischer oder azetonischer Lösung vor sich geht. Es ist daher auf Parallelversuche mit Resorcin und Resorcinnovolak hinzuweisen. Der Resorzinnovolak, d. h. ein Kondensationsprodukt aus 1 Mol Resorcin mit 0,5 Mol CH_2O, unter dem Einfluß von Mineralsäure kondensiert, ist infolge des Besitzes von 2 Hydroxylgruppen in jedem C_6-Ring wasserlöslich und kann ohne das Hilfsmittel der Zwischenschaltung eines organischen Lösungsmittels direkt in wässeriger Lösung an das Kollagen herangebracht werden. Dieser Resorcinnovolak ist also unmittelbar mit den pflanzlichen Gerbstoffen in bezug auf die gerbereitechnische Anwendbarkeit zu vergleichen. Auch hier zeigt sich das gleiche Bild wie bei Phenol: während die monomere Verbindung bei der Adsorption orientiert aufgenommen wird und unter Eindringen in das Molekülgitter des Kollagens die Gitterbindungen aufhebt (Tabelle II), verläuft die Aufnahme der polymeren Verbindung unorientiert und ohne Einfluß auf die Gitterbindung; im Gegenteil, es erfolgt durch Mehrfachbindung des polymerisierten Moleküls durch mehrere Eiweißmoleküle eine Vernetzungswir-

[10]) A. Wanscheidt, A. Itenberg und T. Andrejewa, Ber. Dtsch. chem. Ges. 69, 1900 (1936).

[11]) Siehe Fußnote 1.

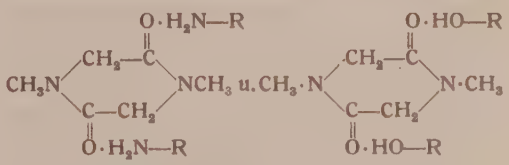
kung, worin der wichtigste Effekt der Gerbung zu erblicken ist.

6. Bei der Herstellung von künstlichen Gerbstoffen für die Technik wird das Problem des Wasserlöslichmachens der Gerbstoffe, sofern sie den Charakter von Phenol- und Kresolnovolaken besitzen, durch Einführen einer Sulfosäuregruppe gelöst, wobei ein Minimum an diesen Gruppen angestrebt werden muß, weil sonst die Gerbwirkung sich sehr auffällig verschlechtert. Rechnet man bei den Mengenverhältnissen der minimalen Sulfierung durch, wieviel Sulfosäuregruppen im Durchschnitt auf die in Novolak vorhandenen Phenolreste kommen, so zeigt es sich, daß etwa jedes zweite Phenolmolekül eine Sulfosäure darstellt[12]). Es wäre jedoch falsch, sich einen derartigen Gerbstoff als einheitliche Verbindung vom Charakter einer Dioxydiphenylmethansulfosäure vorzustellen, vielmehr befinden sich in derartigen Systemen nebeneinander sulfierte und unsulfierte Verbindungen, wobei letztere durch erstere dispergiert werden. In derartigen Systemen sind die unsulfierten Bestandteile die eigentlichen Gerbstoffe.

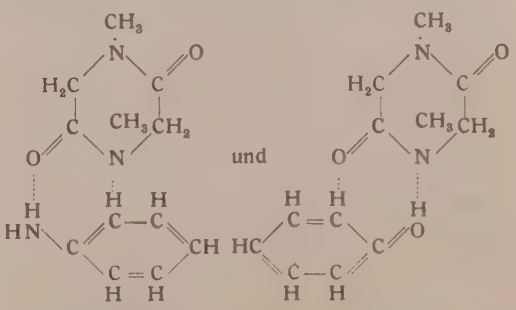
Ein näheres Studium dieser Verhältnisse hat gezeigt, daß die Gerbstoffe um so gerbaktiver sind, je weniger sie durch den Besitz hydrophiler Gruppen zur Wasserlöslichkeit neigen. Auch bei den natürlichen Pflanzengerbstoffen ist Ähnliches festzustellen: der besonders wirksame Quebrachogerbstoff besteht z. T. aus Anteilen, die im kalten Wasser unlöslich sind, und die gerade deswegen besonders gerbaktiv sind, vorausgesetzt, daß man sie durch Lösungsvermittlung mit hochmolekularen gutwasserlöslichen Verbindungen ähnlicher Beschaffenheit (geeignet ist hierfür z. B. die Ligninsulfosäure) oder durch Erwärmen in Lösung bringt, was im Zusammenhang mit der gerbtechnischen Anwendung dann möglich ist, wenn das Kollagen schon genügend weit in kalten Gerbbrühen vorgegerbt ist.

Auch die Gerbstofflösungen sind ein lohnender Gegenstand der kolloidchemischen Betrachtungsweise, wie aus dem Gesagten hervorgeht. Doch ist nicht eigentlich die Teilchengröße der Gerbstoffe die Problemstellung, da die Teilchengröße außerordentlich temperaturvariabel und auch von den übrigen Bedingungen (Azidität, Elektrolytgehalt, oxydative Änderungen) abhängig ist. Vielmehr handelt es sich um das Zusammenspiel von eigentlichen Gerbstoffen und solchen Verbindungen, die gerberisch weniger aktiv sind, und zum Teil geradezu als Nichtgerbstoffe angesprochen werden müssen, die zueinander in dem Verhältnis eines emulgierten, an sich unlöslichen Stoffes und eines Emulgators stehen. Von diesem Standpunkte aus ist das Problem der Gerbstofflösungen bisher so gut wie unbearbeitet geblieben; die Weiterarbeit auf diesem Gebiet verspricht auch Gewinn für die technische Gerbung.

7. Daß die Reaktionsweise des monomeren Phenols mit der Hautsubstanz in der Reaktionsweise der polymerisierten Novolakmoleküle in Summierung wieder erscheint, leuchtet ohne weiteres ein. Es bleibt nun noch zu erörtern, ob sich über die Wechselwirkung zwischen Peptidgruppe und Phenolmolekül genauere Angaben machen lassen. Daß die Peptidgruppe des Eiweißkörpers die wichtigste Affinitätsgruppe gegenüber dem Gerbstoff darstellt, wurde schon betont. Außer den hierfür genannten Gründen kann auf die von P. Pfeiffer und Mitarbeitern[13]) angestellten Modellversuche mit Sarkosinanhydrid und Diketopiperazin verwiesen werden. Diese typischen Peptidverbindungen bilden mit Phenol, aber auch mit dem basischen Anilin Molekülverbindungen, für die von Pfeiffer folgende Formulierungen angegeben wurden:



Diese Formulierung befriedigt insofern nicht, als der amphotere, zwitterionische Charakter der Peptidgruppe, der in der Bildung von Molekülverbindungen mit dem sauren Phenol und dem basischen Anilin offenbar wird, und der ein Abbild des amphoteren Charakters der Proteine als solcher darstellt, nicht genügend berücksichtigt wird. Die folgenden Formulierungen für die Pfeiffer'schen Molekülverbindungen werden dem amphoteren Charakter der Peptidgruppen mehr gerecht:

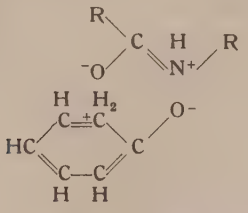


Die Additionsverbindung zwischen einem Peptidkörper und Phenol läßt sich auch durch

[12]) A. Küntzel und M. Schwank, Collegium **1940**, 441, 445.

[13]) P. Pfeiffer, O. Angern, L. Wang, R. Seydel und K. Quehl, J. prakt. Chem. **126**, 97 (1930).

eine Schreibweise wiedergeben, bei der durch mesomere Elektronenverschiebung beide Reaktionspartner dipolig geworden sind, so daß zwischen ihnen elektrostatische Bindungskräfte wirksam werden:



Die Erfahrung hat gelehrt, daß die Gerbung unmöglich an eine einzige Gruppierung, etwa an die phenolische Hydroxylgruppe, gebunden sein kann. Vielmehr muß es sich bei der „depsophoren" Gruppe (wenn man die gerbaktive Gruppe in Analogie zu der chromophoren Gruppe der Farbstoffe so benennen will) um einen Typus von Gruppierungen handeln, der recht weit verbreitet ist und auf die verschiedenste Weise verwirklicht werden kann. Eine Polarität im Sinne der obigen zwitterionischen Formulierung wäre ein solcher Typus einer Gruppierung, die bei organischen Molekülen verschiedentlich auftritt. Die Sulfosäure- und Carbonsäureestergruppen von Sulfodepsiden und Depsiden, ferner die Säureamidgruppe von Sulfonsäureamiden und Carbonsäureamiden ist in diesem Sinne ebensosehr als depsophore Gruppe zu bezeichnen wie die polare Gruppierung, die in einem aromatischen C_6-Ring durch die phenolische Hydroxylgruppe oder durch eine andere Substitutionsgruppe hervorgerufen wird.

Diese allgemeinere Formulierung der depsophoren Gruppe wird einerseits den Erfahrungen über die Verschiedenartigkeit von pflanzlichen Gerbstoffen gerecht, bietet jedoch auf der anderen Seite dem Bedürfnis, die charakteristische Reaktionsweise aller dieser Gerbstoffe und der ebenfalls großen Mannigfaltigkeit der künstlichen Gerbstoffe auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen, einen brauchbaren Ansatz.

Zusammenfassung.

1. Es werden die wichtigsten Gesichtspunkte erörtert, die zur Klärung der Gerbvorgänge mit pflanzlichen und künstlichen Gerbstoffen führen.

2. Voraussetzung für das Zustandekommen einer Gerbreaktion ist eine genügend weitgehende Diffusion der Gerbstoffmoleküle in die Hautfaser, ein Vorgang, der durch die Quellung der Faser und durch die entquellende (adstringierende) Wirkung der Gerbstoffe gesteuert wird. Die gittermäßig geordneten Molekülbezirke der Fasern, welche ein Röntgendiagramm geben, werden von den Gerbstoffen nicht erreicht.

3. Die chemische Wechselwirkung zwischen dem Eiweißmolekül und dem Gerbstoffmolekül werden an der Einwirkung von Phenol, Brenzkatechin und Resorcin auf Kollagen und an Gerbversuchen mit einfachen Kondensationsprodukten der genannten Oxybenzole, welche den Charakter von Gerbstoffen haben, näher untersucht. Die starke Affinität des Phenols zu Kollagen äußert sich in einer sehr hohen Adsorption, in der Umkehr der Doppelbrechung und in der Verleimung. Zwischen diesen Erscheinungen besteht ein enger Zusammenhang. Bei den Kondensationsprodukten ist die Adsorption noch mehr gesteigert, während Verleimung und Umkehr der Doppelbrechung unterbleiben.

Aus diesen experimentellen Befunden lassen sich Schlußfolgerungen über den Umfang der Durchreaktion der Hautfaser durch Gerbstoffe und über den Charakter der Gerbreaktion als Vernetzungsreaktion ableiten.

4. Eine Gerbung findet nur dann statt, wenn die Hautfaser hydratisiert ist; andererseits ist die Gerbwirkung des Gerbstoffmoleküls um so besser, je weniger dieses eine Affinität zu Wasser besitzt. Wasserunlösliche Phenol- und Kresolnovolake sind bessere Gerbstoffe als die Sulfosäuren der in den Novolaken enthaltenen Kondensationsprodukte. Um wasserunlösliche Gerbstoffe an eine wassergequollene Hautfaser heranzubringen, kann man nacheinander verschiedene Lösungsmittel verwenden oder man bedient sich einer Lösungsvermittlung durch Peptisatoren.

5. Die Beschaffenheit der in den organischen Gerbstoffen wirksamen gerbaktiven (depsophoren) Gruppen und ihre Wechselwirkung mit den Peptidgruppen, welche als Träger der Affinität des Eiweißmoleküls gegenüber den Gerbstoffen anzusehen sind, werden erörtert.

Aus dem Institut für Textil- und Gerbereichemie der Technischen Hochschule Karlsruhe (Vorstand: Prof. Dr.-Ing. Egon Elöd).

Beiträge zur Struktur und Chemie der Wollfaser.[1])

Von E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn. (Eingegangen am 6. Juni 1942)

Im Anschluß an in dieser Zeitschrift mitgeteilte Arbeiten (1) wollen wir einige neue Ergebnisse besprechen. Bei Untersuchungen über den enzymatischen Abbau von Keratinfasern fanden wir eigenartige fibrilläre Aufsplitterungen bei Roßhaaren. Übermikroskopische Untersuchungen an isolierten Spindelzellen in der Wolle vertieften die Kenntnisse über noch kleinere Bauelemente in diesen Zellen. Für die angenommene natürliche Laminarstruktur der Peptidketten konnten weitere experimentelle Hinweise gewonnen werden. Systematische analytische Untersuchungen der Einwirkungen verschiedener Reagenzien auf Wolle sollen beitragen zur Klärung des Zusammenhangs von strukturellen und mechanischen Eigenschaften der Faser mit der Art und Zahl chemischer Bindungen im Eiweißmolekül. Besonders eingehend wurde die Beziehung zwischen Zystingehalt und mechanischer Festigkeit überprüft. Aus diesen Untersuchungen kann gefolgert werden, daß die Wolle in erster Linie nicht ein Zystin- sondern ein Peptidproblem ist.

A. Struktur der Keratinfaser.

1. Der enzymatische Abbau von Roßhaaren.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß die meisten Eigenschaften der Wollfaser in Beziehung zu ihrem eigenartigen histologischen Aufbau stehen. Wie bekannt, enthält die Wollfaser eine aus Schuppen bestehende Oberhautschicht, unter welcher sich nach neueren Arbeiten von H. Reumuth (2) eine porige Haut, die Subcutis, befindet. Die Hauptmasse der Faser bilden die langen, meist flachen Spindelzellen. Bei gröberen Haarsorten findet sich in zentraler Lage eine aus zusammenhängenden Strängen oder inselartig angeordneten Zellen bestehende Markschicht. Einen Überblick über den Stand der Erkenntnisse auf diesem Gebiet vermitteln am besten die Arbeiten von H. Reumuth (3). Über die umfangreiche histologische Literatur unterrichtet die kürzlich erschienene Aufsatzreihe von G. Satlow (4).

Besonders interessant sind die Vorgänge, welche sich abspielen, wenn Wolle Behandlungen unterworfen wird, die einen Zerfall in ihre histologischen Bausteine nach sich ziehen. Man kennt eine Reihe von Mazerationsmethoden, deren Erfolg darauf beruht, daß die chemische Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Bestandteile der Wolle verschiedenartig ist. Wir befaßten uns wiederholt mit der Einwirkung von Trypsinlösungen auf Keratinfasern. Mit diesem Enzym, das wir nach den Vorschriften von R. Burgess (5) in einem Boraxpuffer vom $p_H = 8{,}6$ und einer Temperatur von 37° C anwenden, erreicht man nach einigen Wochen eine weitgehende Isolierung der Spindelzellen. Man kann durch mikroskopische Verfolgung des Isolierungsvorganges die Frage überprüfen, wie und wo Pigmente vorliegen, vorausgesetzt, daß diese selbst gegenüber der Enzymlösung resistent bleiben. So konnten wir nachweisen, daß bei Hg- und Cd-Keratinen (Keratine mit metallischem Hg bzw. Cd und Wasser behandelt, vgl. weiter unten) das gebildete HgS und CdS nicht etwa auf der Faser oder zwischen den Spindelzellen abgelagert ist, sondern die Spindelzellen selbst homogen, d. h. für das Lichtmikroskop im allgemeinen nicht auflösbar, durchsetzt (6). Wir geben in der Fig. 1 eine mikrophotographische Aufnahme[2]) von isolierten Spindelzellen einer Cadmiumwolle wieder. Man erkennt, daß keine grobkörnigen Einlagerungen vorliegen, die Zelle erscheint im Mikroskop blaßgelb gefärbt.

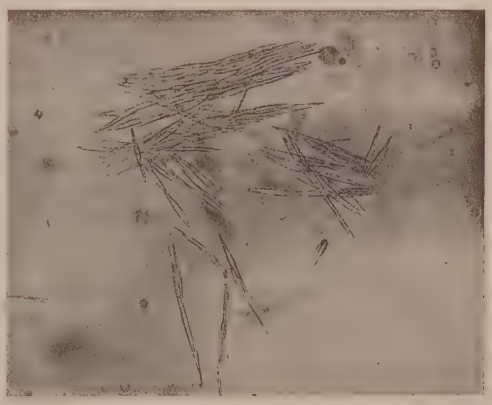


Fig. 1. Mikroaufnahme von aus einer Kadmiumwolle isolierten Spindelzellen. Das CdS ist homogen in den Zellen eingelagert.

Anläßlich derartiger Untersuchungen gelangten wir zu einer auffallenden Beobachtung. Ge-

[1]) 11. Mitteilung aus der Reihe „Struktur und Reaktionsfähigkeit der Wollfaser". 10. Mitteilung vgl. E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn, Klepzigs Textilzeitschrift 45, 663 (1942).

[2]) Die mikrophotographischen Aufnahmen haben wir in der Staatlichen Chemisch-Technischen Prüfanstalt in Karlsruhe angefertigt. Wir danken an dieser Stelle Herrn Direktor Dr.-Ing. Th. Nestle für das freundliche Entgegenkommen.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Mikroaufnahmen von 3 Wochen mit Trypsin behandelten Roßhaaren.
Neben den isolierten Spindelzellen finden sich größer dimensionierte fibrilläre Strukturen.

reinigte Roßhaare zerfallen nach 3wöchentlicher Trypsineinwirkung in ausgeprägte fibrilläre Gebilde, wie sie in den Fig. 2, 3 und 4 wiedergegeben werden. Man erkennt, daß diese großen Längsgebilde in Spindelzellen zerfallen, welche in großer Anzahl auch isoliert vorkommen. Diese Erscheinung[3]) läßt sich verschiedenartig deuten. Sicherlich erfolgt der tryptische Abbau der Haare nicht gleich stark an allen Stellen zwischen den Spindelzellen der Faser, vielmehr ist anzunehmen, daß es ausgedehnte Bereiche einer besonders leichten Angreifbarkeit gibt, nach deren Zerstörung widerstandsfähigere, lange Pakete von Spindelzellreihen deutlich hervortreten. Sicherlich spielt eine große Rolle bei diesen Vorgängen die bei Roßhaaren stärkere Ausbildung des Markstranges, so daß Rinden- und Markschicht nebeneinander in vergleichbaren Mengen vorkommen. Betrachtet man Querschnitte von Roßhaaren unter dem Mikroskop, so fallen Zonierungen und Schichtungen auf. Es ist denkbar, daß diese Verhältnisse das Auftreten von Längselementen begünstigen.

Bekanntlich findet sich in der Natur häufig eine gewisse Wiederholung des Bauplanes der Körper im kleinen wie im großen. H. Zahn (7) fand mit dem Übermikroskop ausgeprägte Längsstrukturen in isolierten Spindelzellen der Wolle (vgl. Fig. 5), welche eine auffallende Ähnlichkeit

Fig. 5. Übermikroskopische Aufnahme der Spitze einer aus Schafwolle isolierten Spindelzelle mit Fibrillen und Mikrofibrillen. El.-optisch 23000 : 1.

[3]) Die Aufsplitterung der Faser läßt sich am besten erkennen, wenn man die Haare mit einem Glasstab vorsichtig bearbeitet (Druck).

mit den fibrillären Gebilden bei tryptisch abgebauten Roßhaaren aufweisen. Für beide ist in der Tabelle I eine Zusammenstellung der mittleren Werte der Dicke der verschiedenen Längsstruktur enthalten. Man erkennt, daß eine auffallende Übereinstimmung auch in der Größenordnung der Aufteilung besteht, wenn man davon ausgeht, daß einerseits ganze Roßhaare und andererseits isolierte Spindelzellen weiter abgebaut werden.

Es besteht zwar keinerlei Anlaß, weder bei den Roßhaaren noch bei den Spindelzellen bei den Längsstrukturen von definierten histologischen Elementen zu sprechen; man wird aber doch feststellen können, daß es sich hierbei um ausgeprägte Übergangsstufen zwischen der intakten Faser und der intakten Spindelzelle einerseits und den Spindelzellen und Mizellen andererseits handelt. Diese Übergangsstufen sollen Fibrillen genannt werden, welcher Name aber keinen Anspruch auf eine über den Begriff von faserähnlichen, kleinen Gebilden hinausgehende Festlegung bedeutet. Die etwa 20 bis 30 μ breiten Fibrillen der Roßhaare seien Makrofibrillen genannt; die Übergangselemente beim Zerfall der Spindelzellen sollen weiter Fibrillen heißen [vgl. (10) und (11)].

Tabelle I.
Vergleich der beim tryptischen Abbau von Roßhaaren und Spindelzellen der Wolle auftretenden Längsstrukturen.

	Breite in μ	Proz. Anfang
Intaktes Roßhaar	150	100
Makrofibrillen	15—25	13
Spindelzellen	5	3

	Breite in mμ	Proz. Anfang
Intakte Spindelzelle . . .	5000	100
Fibrillen	400—800	12
Mikrofibrillen und Mizellen	20—100	1

Man wird die eben geschilderten Ergebnisse nicht besonders ungewöhnlich finden, da man weiß, daß J. Bartsch (8) an Naturseide mit Trypsin ganz ähnliche Strukturen aufgefunden hat. Dagegen kann man aus der histologischen Literatur der Wolle nur wenige Beispiele nennen. Meist wurde nur beobachtet, daß die Wollfaser bei der Einwirkung von Trypsin oder anderen Fermenten in Spindelzellen zerfällt, ohne daß Zwischenstufen auftreten. A. Herzog und P. A. Koch (9) berichten indessen von Strukturen, welche in geschädigter Wolle vorkommen, die eine auffallende Ähnlichkeit mit den geschilderten Übergangsstufen des Faserzerfalles aufweisen. Eigene Versuche lehrten, daß beim tryptischen Abbau der Wollfaser den Makrofibrillen bei Roßhaar entsprechende Zwischenstufen auftreten, diese aber bei weitem nicht so deutlich ausgeprägt sind wie bei den Roßhaaren. Die Fig. 6 zeigt eine Mikroaufnahme einer mit Trypsin abgebauten Wollfaser, welche einigermaßen deutlich neben isolierten Spindelzellen auch größere Fibrillen erkennen läßt.

Fig. 6.
Mikroaufnahme eines Faserbruchstückes von Schafwolle nach drei Wochen langer Trypsinbehandlung.

2. Die Struktur der Spindelzelle.

Die Kenntnisse über die Struktur der Spindelzellen selbst vermehren sich in letzter Zeit, seit das Übermikroskop sich als ein wertvolles Hilfsmittel bei der Erforschung natürlicher und künstlicher Faserstoffe erwiesen hat. Der eine von uns konnte kürzlich (10) in Fortsetzung früherer Arbeiten (11) zeigen, daß die fibrillenartigen feineren Strukturen in den Spindelzellen nicht nur an den Spitzen auftreten, sondern auch im mittleren Teil der Zelle. Eine Durchstrahlbarkeit mit Elektronenstrahlen ließ sich erreichen, nachdem man isolierte Spindelzellen in flüssiger Luft weiter zerkleinert hatte. Die dabei auftretenden Bruchstellen (vgl. Fig. 7) geben ein charakteristisches Konturenbild, welches aus den Bruchkanten der einzelnen Fibrillen besteht. Diese Beobachtung wurde zur gleichen Zeit unabhängig von uns auch von H. Reumuth (12) unter Verwendung des Phasenkontrast-Verfahrens gemacht. Reumuth

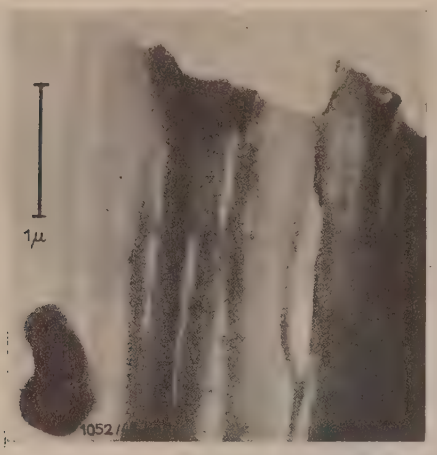


Fig. 7. Übermikroskopische Aufnahme einer Querbruchstelle einer isolierten Spindelzelle. Die Bruchstelle besteht aus den Bruchkanten einzelner Fibrillen und Mikrofibrillen. Vergrößerung el.-opt. 19000:1*).
*) Die Aufnahmen der Fig. 5 und 7 wurden im Laboratorium für Übermikroskopie der Siemens & Halske A. G. Berlin-Siemensstadt hergestellt.

konnte in anschaulicher Weise Bruchkanten von Spindelzellen photographieren und sogar einzelne, aus der Spindelzelle stammende Fibrillen nachweisen.

3. Röntgenographie der Schafwolle.

In einer Reihe von Arbeiten haben Astbury und Mitarbeiter (13) ein Strukturmodell für die Wolle entwickelt. Das wesentliche Ergebnis war die Erkenntnis, daß die Wolle analog wie andere natürliche und künstliche Faserstoffe aus langen Hauptvalenzketten von Polypeptiden besteht und in zwei Modifikationen, dem α- und β-Keratin, auftritt. Die Umwandlung von α- und β-Keratin geschieht beim Dehnen der Faser über 30 Proz. Die Festlegung dieses Modells nach Astbury erfolgte jedoch nicht auf Grund einer strengen Strukturanalyse, sondern mit Hilfe von raumchemischen Überlegungen, da für eine Strukturanalyse eine ausreichende Flächenstatistik fehlt. Als gesichert kann der angenommene grundsätzliche Aufbau für β-Keratin gelten, der aus der weitgehenden Ähnlichkeit der Röntgenogramme von β-Keratin und der Seide erschlossen wurde. Gegenüber der Vorstellung über die seitlichen Bindungen der Polypeptidketten untereinander weichen jedoch unsere Annahmen über den Aufbau der Wolle, wie sie in mehreren Arbeiten dargelegt wurden, von denen Astbury's ab. Es zeigte sich nämlich, daß der Zusammenhalt der Ketten zwischen den CO- und NH-Gruppen bedeutend fester ist als der in der dazu senkrechten Richtung, wo die Seitenketten die Verknüpfung herstellen. Die auf diese Weise entstehenden Roste liegen im α-Keratin in stark geknäueltem Zustand vor — im Röntgenogramm des α-Keratins fehlen die Anzeichen für eine echte kristalline Struktur — während sie in der gestreckten Form besser geordnet und parallelisiert vorkommen. Auf die Unzulänglichkeit der Astbury'schen Seitenkettenvorstellung wies auch H. Neurath (14) hin, der ebenfalls die Vorstellung des Bestehens lamellarer Strukturelemente entwickelt, die durch die Verknüpfung der CO- und NH-Bindungen der Polypeptidketten entstehen. Auch L. W. Janssen (15) vertritt die Ansicht, daß in den Proteinen das charakteristische Bauelement in solchen Flächen oder Wellrosten zu suchen ist. Wir bringen in der Fig. 8 unser Schema für die Laminarstruktur in den Keratinen und in der Fig. 9 das Rostmodell der Proteine nach

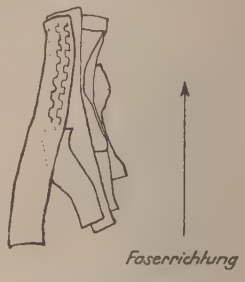


Fig. 8. Schematische Darstellung der Laminarstruktur der Wollfaser-Lamellen aus einem Faserstück (seitliche Ansicht).

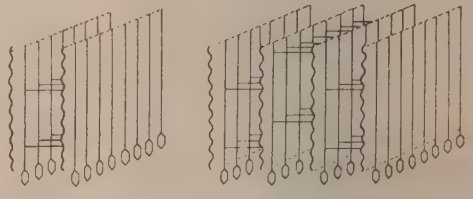
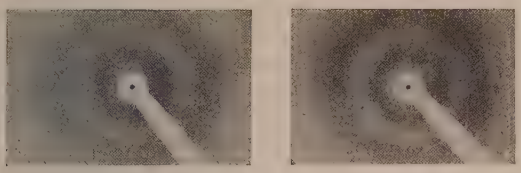


Fig. 9. Schematische Darstellung des Proteinaufbaues aus Lamellen nach L. W. Janssen. Derartige Strukturen stellen einen kleinen Teil gut paketierter Peptidroste der Fig. 8 dar.

Janssen. Die Ausbildung derartiger Strukturen in der Chemie der Proteine scheint allgemeiner Natur zu sein. H. Nowotny und H. Zahn (16) fanden bei der Hautsubstanz eine solche Lamellarstruktur in wesentlich größeren Anteilen als bei der Wolle oder andern nicht blättchenförmigen Keratinen (vgl. Fig. 10a und b). Dies zeigt sich durch die höhere Orientierung im Röntgeno-



a b

Fig. 10. Röntgenaufnahmen einer vorhornten Hautpartikel: a) parallel, b) senkrecht zur Blättchenebene aufgenommen. Bei paralleler Stellung des Primärstrahles zur Ebene beobachtet man eine Verstärkung des inneren Ringes (Seitenkettenabstand) sowie eine Zunahme der Anisotropie.*)

*) Leider kommen diese Unterschiede bei den Reproduktionen wenig zur Geltung.

gramm dergestalt, daß in Übereinstimmung mit dem allgemein entwickelten Bauprinzip die Seitenketten senkrecht, die Roste parallel zur Außenwand der Hautsubstanz gelagert sind. E. Schiebold (17) hat in dieser Zeitschrift Strukturmodelle auf Grund rein kristallchemischer Betrachtung entwickelt, die nur teilweise mit unseren Ergebnissen in Einklang zu bringen sind. An Stelle der mehr oder weniger starken Knäuelung der Wellroste beim Entdehnen und Schrumpfen sieht Schiebold neben der α-Struktur noch ein α' und eine weitere, noch stärker eingerollte Form des α''-Keratins vor. Für eine Unterscheidung in solche verschiedene Strukturen liegt indessen röntgenographisch kein Anhaltspunkt vor. Läßt man jedoch die scharfen Übergänge fallen und sagt, daß die Roste sich „allmählich" stärker einrollen bzw. beim Dehnen stärker gleichgerichtet, parallelisiert und geordnet werden können (Kristallisation), dann weichen die grundsätzlichen Vorstellungen über den Aufbau der Keratine nicht mehr wesentlich voneinander ab. Die Erkenntnis, daß das α-Keratin wegen seiner Anisotropie (Faserstruktur) allein nicht unbedingt als kristallin (mit dreidimensionaler Ordnung) angesehen werden muß, kann wohl als überholt gelten, da es z. B. bei orientierten Polyvinylazetaten bekannt ist, daß diese, auch ohne kristallisiert zu sein, eine Faserstruktur besitzen.

B. Chemie der Wolle.

1. Die Bindungen im Wollprotein.

Während wir hinsichtlich des Kristallbaues, namentlich des in gedehnten Keratinen vorliegenden β-Keratins, über anschauliche und befriedigende Vorstellungen verfügen, darf nicht übersehen werden, daß im Gegensatz zu einer Reihe anderer Proteine über die Aufeinanderfolge und Anordnung der Eiweißbausteine im einzelnen nichts bekannt ist. Die Bausteinanalyse erfaßt immerhin bei der ausgedehnten Untersuchung von Martin und Synge (18) über die Monoaminosäuren ca. 90 Proz. des gesamten Stickstoffs. Wir entnehmen dieser kürzlich erschienenen Arbeit die Tabelle II, in welcher die Ergebnisse der Bausteinanalyse zusammengestellt sind[3a]).

Tabelle II. Zusammensetzung der Wolle aus Aminosäuren. Stickstoff in Prozent des Gesamtstickstoffs.

	Abderhalden u. Voitinovici (19) (1907)	Marston (20) (1928)	Block (21) (1937)	Andere Autoren	Martin und Synge (18)
Glykokoll . . .	0,65	—	7,87	—	—
Alanin	4,13	—	—	—	—
Valin	2,0	—	—	—	3,4
Leuzinisomere .	7,35	—	—	—	7,2
Phenylalanin .	—	—	2,2	—	1,9
Prolin	3,20	—	—	—	4,9
Methionin . . .	—	—	—	0,3[1])	0,4
Zystin	5,08	8,59	9,93	—	—
Serin	0,05	—	—	7,5[2])	—
Threonin . . .	—	—	—	4,7[2])	—
Tyrosin . . .	1,34	2,08	2,26	—	—
Tryptophan . .	—	1,39	0,62	—	—
Asparaginsäure	1,45	—	—	4,56[3])	—
Glutaminsäure	7,34	—	—	8,68[3])	—
Ammoniak . .	—	6,74	—	8,18[3])	—
Arginin	—	18,48	18,16	20,2[4])	—
Histidin . . .	—	10,50	1,23	—	—
Lysin	—	5,02	3,12	—	—

[1]) Barrit (22) (1934). [2]) Martin u. Synge (18). [3]) Speakman u. Towend (23) (1937). [4]) Vickery (24) (1940).
[3a]) Vgl. hierzu auch die Analysen von P. Rambacher, Dissert. (Würzburg 1939).

Auch über das Molekulargewicht der Keratine ist nichts bekannt. Man weiß nur, daß diese Eiweißkörper zu den hochmolekularen Kondensationsprodukten gehören, ohne daß man in der Lage wäre, auch nur die Größenordnung des Molekulargewichtes abzuschätzen. Die Schwierigkeit, bei Keratinen Molekulargewichte zu messen, rührt daher, daß es bisher nicht gelungen ist, diese Proteine molekulardispers in Lösung zu bringen. Sämtliche Lösungsmittel können erst nach tiefgreifenden chemischen Veränderungen die Keratine dispergieren. Dieses eigenartige Verhalten läßt sich zurückführen auf die bemerkenswerte Mannigfaltigkeit chemischer und physikalischer Bindungsmechanismen bei den Keratinen. Diese verhindert, daß zur Herstellung einer molaren Lösung sämtliche zwischenmolekularen Bindungen gelöst werden, weil ein bestimmtes Lösungsmittel kaum in der Lage sein dürfte, die verschiedenen zwischenmolekularen Mechanismen zu lösen, und selbst, wenn dies gelänge, ohne dabei die chemischen Bindungen im Molekül anzugreifen. Betrachten wir in der Tabelle III die in Keratinen vorkommenden bzw. angenommenen haupt- und nebenvalenzartigen Bindungen, so läßt sich verstehen, warum es bisher nicht gelungen ist, die Wolle molekular in Lösung zu bringen.

Tabelle III. Schematische Übersicht über in Keratinen vorkommende Bindungen.

A. Hauptvalenzbindungen

a) homöopolar:
1. Peptidbindungen
2. Disulfidbindungen
3. Ätherbindung*)
4. Karbonsäureanhydridbindung*)
5. Diketopiperazinringe*)
6. Pyrrole*)

b) heteropolar:
1. Salzbindungen

B. Nebenvalenzbindungen

1. Wasserstoffbrücken zwischen CO- und NH-Gruppen
2. Dipolkräfte
3. Van der Waals-Bindung
4. Dispersionskräfte

*) Diese Bindungen konnten bisher einwandfrei nicht nachgewiesen werden.

Zu der Mannigfaltigkeit der Bindungen der Wolle, die man je nach dem Gesichtspunkt als ein hochmolekulares Peptid, als einen Schichtkristall oder als ein Salz auffassen kann, kommt der Umstand, daß zuweilen die Hauptvalenzbindungen reaktionsfähiger sind als die zwischen chemischen Gruppen getätigten sog. Nebenvalenzkräfte. Zum Beispiel haben wir gefunden, daß bei noch so starken chemischen Einwirkungen die zwischen benachbarten CO- und NH-Gruppen wirkenden Bindungen (wahrscheinlich H-Brücken) erhalten bleiben, selbst wenn der größte Teil der kovalenten chemischen Bindung aufgespalten ist. So drängt sich die Vorstellung auf, daß man nicht sicher ist, was man unter dem Begriff des Moleküls bei Keratinen verstehen soll; es hat beinahe den Anschein, als ließe sich der eigentliche Molekülbegriff genau so wenig wie z. B. bei einem Glimmerkristall oder Graphit anwenden (25).

Man wird hierüber begründete Vorstellungen erst entwickeln können, wenn einmal mehr über die im Protein wirkenden Kräfte bekannt geworden ist. Man weiß eigentlich Genaueres nur von den Peptid- und Zystinbindungen. Jedoch ist deren Rolle für die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Fasern keineswegs geklärt. Wir haben uns die Aufgabe gestellt, zur Erforschung dieser Fragen beizutragen. Zu diesem Zweck untersuchen wir, welche Veränderungen im chemischen und strukturellen Bau der Wolle vor sich gehen, wenn man die Faser mit verschiedenen Chemikalien behandelt. Besonders günstig für diese Untersuchungen sind solche Einwirkungen, welche nachweislich nur eine bestimmte Bindung im Molekül angreifen, so daß aus Veränderungen mechanischer und physikalischer Eigenschaften, die hiermit verbunden sein mögen, wirklich eindeutige Schlüsse auf den Zusammenhang zwischen der chemischen Bindung und Eigenschaften der Faser gezogen werden können. Es ist nicht überflüssig, diese Forderung mit allem Nachdruck immer wieder zu erheben. Man hat oft chemische Veränderungen mit mechanischen Eigenschaften der Faser in Zusammenhang gebracht, eine Fragestellung, deren praktisch technische Bedeutung auf der Hand liegt, ohne genau geprüft zu haben, ob nicht außer der untersuchten chemischen Bindung noch andere Mechanismen in Mitleidenschaft gezogen worden sind.

Wir wollen die Besprechung der Ergebnisse in der Weise gliedern, daß zuerst solche Reaktionen beschrieben werden sollen, welche der Forderung nach spezifischer Einwirkung weitgehend genügen. Daran werden sich die wesentlich schwieriger auszuwertenden Reaktionen anschließen, bei welchen verschiedene Bindungsmechanismen der Wolle angegriffen werden. Aus den Ergebnissen der Bausteinanalyse läßt sich herleiten, daß das Verhältnis von Peptid- zu

Zystinbindungen zahlenmäßig etwa 16:1 bis 17:1 beträgt. Daher sollte man erwarten, daß die häufigsten und für Eiweißkörper typischen Peptidbindungen auch die wichtigsten sind. Es hängt nicht zuletzt mit der reizvollen Chemie der Schwefelverbindungen zusammen, daß man über die Rolle der Peptidbindungen in der Wolle keine einzige systematische Studie kennt, während die Literatur über den Schwefelgehalt und seinen Träger, das Zystin, beinahe unübersehbar geworden ist[4]).

1. Zystin-spezifische Reaktionen der Wollfaser.

Obwohl schon viel über die Rolle des Zystins in der Wolle gearbeitet wurde, ist eine wirklich spezifische Spaltung dieser Bindungen zwecks Studium der Veränderungen im Faserbau erst kürzlich durch die Arbeit von W. J. Patterson, W. B. Geiger, L. R. Mizell und M. Harris (26) bekannt geworden. Diese Autoren haben Wolle mit einer 0,2 molaren Thioglykolsäurelösung bei 35° C und einem p_H-Wert von 4,5, also in der Nähe des isoelektrischen Punktes behandelt und konnten als einzige chemische Veränderung eine weitgehende Verminderung der Zahl von SS-Gruppen der Wolle verzeichnen, welche durch die Reduktion als SH-Gruppen vorlagen. Die Faserstruktur blieb bei diesen Versuchen erhalten, die Einzelfaserfestigkeit sank nach Spaltung von 50 Proz. der ursprünglichen SS-Gruppen nur um ca. 10 Proz.

Es gibt noch andere Möglichkeiten, um spezifisch SS-Gruppen zu verändern. Wir haben die Einwirkung von Quecksilbernitratlösungen auf die Wollfaser bei 100° C untersucht und gefunden, daß die Faser weitgehend abgebaut wird, wobei sämtlicher disulfidischer Schwefel verschwindet. Die Umsetzung des Zystins beruht hier wahrscheinlich auf einer dismutativen Sprengung, wie sie bei der Einwirkung von Quecksilbersalzen auf Zystin von D. G. Simonsen (27) nachgewiesen wurde. Neben der Umsetzung des Zystins werden Peptidbindungen gespalten, da in der Versuchsflotte Eiweißabbauprodukte in reichlicher Menge gefunden wurden. Einen Hinweis für Spaltungen von Peptidbindungen scheinen auch die Veränderungen im Röntgenogramm zu liefern. Es tritt ein Abbauprodukt, das d-Keratin, auf, das bisher nur nach peptidspaltenden Einwirkungen festzustellen war. Man kann bei Quecksilber-2-Nitrat-Lösung eine Veränderung der Stickstoffbindungen in der Wolle ausschalten, wenn man die Einwirkung bei Zimmertemperatur vor sich gehen läßt. Selbst nach 4 Wochen langer Behandlung von Wollgarnen mit diesem Reagens ist die Trocken- und Naßreißfestigkeit praktisch gleich geblieben, wenn man mit der Ausgangswolle oder mit Testproben vergleicht, welche nach Einwirkung von Salzsäure vom gleichen p_H-Wert unter gleichen Bedingungen erhalten wurden. Als einzige chemische Veränderung konnte bisher nur eine Sprengung der Zystinbindungen gefunden werden[5]). Stickstoffhaltige Körper gehen während des Versuches nicht in Lösung. Die Ergebnisse der Reihe sind in der Tabelle IV zusammengestellt.

Tabelle IV. Die Einwirkung einer 0,11 molaren Quecksilber-2-Nitratlösung vom $p_H = 1{,}61$ auf Wollgarne bei Zimmertemperatur.

Versuchsdauer in Tagen	Probe	Zystinumsatz in Proz.	Garnreißfestigkeit Trocken kg	Garnreißfestigkeit Naß kg	Festigkeitsabnahme in Proz. gegen unbehandelte Wolle	Festigkeitsabnahme in Proz. gegen Test-Wolle
0	unbehandelt	0	1,21	1,19	0	
2	$Hg(NO_3)_2$	8,7	1,28	1,08	1,4	5,0
	Test	0	1,24	1,25	—3,8	
8	$Hg(NO_3)_2$	25,0	1,30	1,14	—1,6	3,0
	Test	0	1,32	1,20	—4,6	
28	$Hg(NO_3)_2$	32,5	1,23	1,09	3,3	6,3
	Test	0	1,36	1,12	—3,2	

[4]) Ausführliche Zusammenstellungen über die Schwefel-Zystin-Literatur finden sich bei A. Schöberl [Angew. Chem. **53**, 227 (1940) und **54**, 313 (1941)] sowie A. Schöberl und P. Rambacher [Biochem. Z. **306**, 269 (1940)].

[5]) Verschiedene Beobachtungen sprechen für das Bestehen von R—S—Hg—S—R-Bindungen, d. h. Merkaptiden in mit Quecksilbersalzen behandelten Keratinen. Der Umsatz des Zystins ist demnach in Wirklichkeit höher als er durch die Bestimmung des im Hydrolysat befindlichen Zystins gefunden werden kann. Dies rührt daher, weil Merkaptide bei der Hydrolyse mit konzentrierter Salzsäure unter Thiolbildung gespalten werden. Das Thiol geht bei Zutritt von Luft, begünstigt durch die Anwesenheit von Hg-Ionen, durch Oxydation sehr leicht in das Disulfid über, welches zusammen mit dem nicht umgesetzten Zystin von der Analyse erfaßt wird.

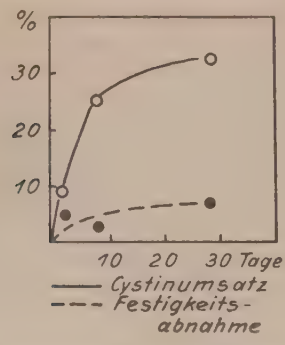
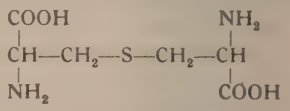


Fig. 11. Graphische Darstellung des zeitlichen Verlaufes der Festigkeitsabnahme und des Umsatzes von Zystinbindungen bei mit Quecksilbernitrat behandelten Wollgarnen.

In der Fig. 11 haben wir die Reißfestigkeiten und den Zystinumsatz graphisch aufgetragen. Man erkennt deutlich, daß die Spaltung von rund $^1/_3$ der ursprünglich vorhandenen Zystinbindungen sich auf die Festigkeit sehr wenig auswirkt.

In der alten Woll-Literatur findet sich eine Arbeit von C. E. Washburn (28), in der über die Einwirkung von Natronlauge auf Wolle berichtet wird. Während verdünnte Lösungen zu einer Herabsetzung der Festigkeiten führen, erhöhen konzentrierte Lösungen — am besten hat sich hierfür 38proz. Natronlauge erwiesen — die Garnfestigkeit. Von großem Interesse für die vorliegende Fragestellung ist die Behauptung von Washburn, es seien nach kurzer Einwirkung der 38proz. Natronlauge nicht weniger als 84 Proz. des Schwefels umgesetzt. Wir konnten diesen Befund bisher nicht bestätigen. Alkalische Behandlungen führen bei Wolle nach den ausführlichen Untersuchungen von M. Harris (29) zu einem bevorzugten Angriff auf den Wollschwefel. Obwohl Wolle 5mal soviel Stickstoff als Schwefel enthält, wird doppelt soviel Schwefel als Stickstoff durch 0,065 normale Natronlauge bei 150° F entfernt. Es sei hier aber betont, daß selbst die hier festgestellte geringe Einwirkung auf den Wollstickstoff bedeutet, daß Alkalien nicht in dem hohen Maße spezifisch SS-Gruppen angreifen wie Thioglykolsäure beim $p_H = 4{,}5$ oder Quecksilber-(2)-Salze. Im Vergleich zu einer Reihe anderer Reagenzien, wie z. B. kochendes Wasser, Säuren oder Oxydationsmittel, kann man jedoch die alkalische Behandlung offenbar so führen, daß sich der Angriff bevorzugt gegen die SS-Bindungen richtet.

Diese Überlegung sowie die interessanten Ergebnisse von M. H. Horn, D. B. Jones und S. J. Ringel (30), welche aus mit Soda behandelter Wolle einen neuen schwefelhaltigen Körper, das Lanthionin, isolierten, veranlaßten uns zu einer Studie über die Einwirkung von Sodalösungen auf Wolle (31). Lanthionin hat die Formel



und stellt demnach einen symmetrischen Thioäther dar, welcher dem Zystin der Wolle seine Entstehung verdankt. Lanthionin wurde kurz darauf bereits von Du Vigneaud und G. B. Brown (32) synthetisiert.

Wir fanden, daß nach 1stündiger Kochung isoelektrischer Wolle mit einer 2proz. Kristallsodalösung, unter welchen Bedingungen Horn, Jones und Ringel gearbeitet hatten, 86 Proz. der ursprünglichen Zystinbindung umgesetzt werden. Dabei gehen stickstoffhaltige Körper in Lösung und das α-Keratin-Diagramm verliert an Orientierung, ohne daß der charakteristische Seitenkettenabstand von 9,8 Å eine Veränderung erfährt.

Bei 80° wird etwa derselbe Umsatz der SS-Bindungen in 22 Stunden erreicht, welcher auch nach weiteren 24 Stunden nicht erhöht wird. Nach 4tägiger Einwirkung der Sodalösung ist die Wolle beinahe völlig in Lösung gegangen, der Rest läßt sich nicht mehr isolieren. Auch in dieser Lösung sind noch SS-Bindungen nachweisbar. Dieser Zerstörung der Faser stehen bei kürzeren Versuchszeiten nur geringe mechanische Schädigungen gegenüber. Anders verläuft die Spaltung der SS-Bindungen, die schon bei kurzen Einwirkungen in wesentlich geringerer Anzahl als ursprünglich vorliegen. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in der Tabelle V zusammengestellt.

Interessant sind die Beziehungen zwischen Zystingehalt und mechanischer Schädigung in dieser Versuchsreihe. Sie lassen sich am besten graphisch veranschaulichen. In der Fig. 12 gibt

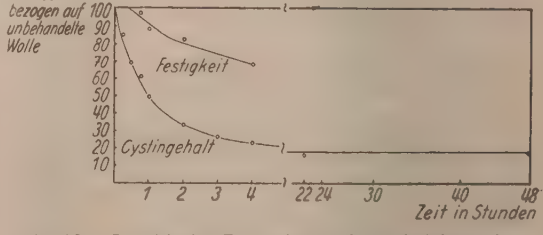


Fig. 12. Graphische Darstellung des zeitlichen Verlaufes der Einzelfaserfestigkeit und des Umsatzes von Zystinbindungen von mit Sodalösung behandelter Schafwolle.

Tabelle V. Die Einwirkung von 0,15 normaler Sodalösung auf Wolle bei 80° (Flotte 1:50, p_H-Endwerte 9,6—9,8).

Dauer in Stdn.	N Proz.	S Proz.	Zystin in Proz.	Zystinumsatz in Proz.	Löslichkeit während des Versuches i. %	Einzelfaserfestigkeit in kg/mm²	Einzelfaserfestigkeit Abnahme in Proz.	Röntgenbefund Diagr.	Röntgenbefund Seitenk. in Å
0	15,54	3,95	11,7	0	0	47,3	0	α-Keratin	9,8
1/4		3,19	9,3	15,0		43,0	9,1		
1/2		3,08	8,7	31,0		46,1	2,5		
3/4		3,00	7,1	39,2		46,4	1,9		
1	14,16	2,78	5,8	50,5	2,2	46,3	2,1		
2	15,05	2,55	3,9	66,7	1,6	42,8	9,5		
3	14,46	2,36	3,1	73,5	7,3	41,6	12,1		
4	15,13	2,25	2,7	76,9	10,0	41,0	13,3		
22	14,32	2,06	1,8	84,6	48,5	22,7	51,0		
48				82,4	77,0				

der eine Kurvenzug die Abnahme des Zystingehaltes, der andere die Festigkeitsverringerung mit wachsender Reaktionsdauer wieder. Man sieht, daß die Festigkeit zu Beginn der Reaktion wesentlich langsamer abfällt als der Zystingehalt. Festigkeitsverluste von bis zu 30 Proz. bedeuten bei der empfindlichen Einzelfaserfestigkeit nur eine geringe Schädigung, während der Zystingehalt bereits um etwa 75 Proz. abgenommen hat. Bei sehr langer Einwirkung läßt sich der Zystinumsatz nicht mehr vergrößern, die Kurve verläuft nach Art einer Sättigung, während die Festigkeit fast verloren geht. Die Erscheinung, daß bei langen Versuchszeiten große Mengen Proteinsubstanz in Lösung gehen, läßt darauf schließen, daß die Lösung von N-Bindungen zur Zerstörung der Faser führt, während die zu Beginn der Reaktion im Vordergrund stehende Spaltung von SS-Bindungen die Faser nur wenig schädigt. Wir können daher die Behandlung der Wolle mit einer 0,15 normalen Sodalösung bei nicht zu langen Versuchszeiten und nicht zu hohen Temperaturen zu den praktisch zystin-spezifischen Reaktionen rechnen.

Wir hatten früher gefunden, daß bei der Entschwefelung der Wolle — erreicht durch Behandlung der Faser mit heißem Wasser und Quecksilber bzw. Kadmium — im Röntgenogramm keine Veränderungen auftreten. Obwohl mit Quecksilber bis zu 70 bis 80 Proz. des ursprünglichen Schwefels, mit Kadmium sämtlicher bleischwärzender Schwefel umgesetzt war, zeigen die Röntgenaufnahmen nur eine Überlagerung des unveränderten α-Keratin-Diagrammes mit den Debye-Linien von HgS bzw. CdS. Insbesondere war der Seitenkettenabstand in unveränderter Lage, entsprechend einem Gitterabstand von 9,8 Å gefunden worden. Diese Feststellung läßt sich mit den Vorstellungen von W. T. Astbury und Mitarbeitern (33) sowie J. B. Speakman (34) nicht vereinbaren, nach welchen Zystin die stärkste und engste Verknüpfung in der sog. side-chain-Ebene vermittelt. Eine Sprengung dieser Bindung sollte eine Lockerung und Aufweitung des Seitenkettenabstandes, zum mindesten eine Abnahme der Ordnung verursachen, zumal man durch die Untersuchungen von Astbury weiß, daß der Seitenkettenabstand — im Gegensatz zu der viel stabileren Rückgratbindung in der Ebene senkrecht hierzu — schon bei der Quellung mit Wasser um einige Prozente zunimmt. So eindeutig unsere Befunde bei Cd- und Hg-Keratinen hinsichtlich der Lage der Seitenketteninterferenzen auch waren, so blieb doch der Wunsch, auch die Intensitätsverhältnisse genauer zu überprüfen. Die Einlagerung von Hg- und Cd-Verbindungen verursacht durch ihre Absorption sowie durch Anteile ihrer amorphen Streuung Intensitätsveränderungen der Diagramme gegenüber unbehandelter Wolle, von denen man nicht ohne weiteres aussagen kann, inwieweit sie von charakteristischen Veränderungen der Faser oder den eingelagerten Pigmenten selbst herrühren. Nachdem Sodalösungen, wie wir gezeigt haben, unter milden Bedingungen einen großen Teil des Zystins zu entfernen imstande sind, war es naheliegend, solche metallfreien Faserproben zu röntgenographieren. Die Röntgenogramme zeigten dabei unverändertes α-Keratin bei Einwirkungen bis zu 4 Stunden. Nach 22 Stunden — die Faser war stark abgebaut — stellten wir immer noch α-Keratin fest. Das Diagramm hatte indessen an Orientierung verloren. Der Seitenkettenabstand wurde bei sämtlichen Aufnahmen bei 9,8 Å gemessen. In der Fig. 13 sind verkleinerte Röntgenaufnahmen von unbehandelten (11,7 Proz. Zystin) Wollfasern (oben), 3 Stunden mit Sodalösung behandelte Wolle (3,1 Proz. Zystin) (Mitte) und 22 Stunden lang behandelte Wolle (1,8 Proz.

Fig. 13. Röntgenaufnahmen von (oben) unbehandelter (11,7 Proz. Zystin) Mitte, 3 Stunden bei 80° C (Zystingehalt 3,1 Proz.) unten, 22 Stunden bei 80° C (Zystingehalt 1,8 Proz.) mit einer 0,15 n Sodalösung behandelter Wolle.

Zystin) (unten) wiedergegeben. Wir folgern auch aus diesen Ergebnissen, daß zwischen der α-Keratinstruktur und dem Zystingehalt in dem untersuchten Gebiet keine Beziehung besteht.

Quantitativ vergleichende Aussagen über Intensitäten von Röntgeninterferenzen lassen sich nur herleiten bei unter völlig gleichen Bedingungen hergestellten Röntgenaufnahmen, worauf O. Kratky besonders aufmerksam gemacht hat. Vor allem wurde oft der Herstellung völlig gleich dimensionierter Präparate zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Um auch die Belichtung der Röntgenfilme völlig gleich durchzuführen, hat O. Kratky eine Vergleichsröntgenkammer konstruiert, welche abwechselnd in Abstand von je 3 Minuten die beiden zu vergleichenden Präparate mit den zugehörigen Filmen in den Strahlengang zu bringen erlaubt. Da unsere Röntgenaufnahmen den hohen Anforderungen, welche man für exakte Vergleiche der Intensitäten zu stellen hat, nicht genügen, hat es Herr Kratky auf unsere Bitte hin in liebenswürdiger Weise unternommen, in seinem Institut entsprechende Untersuchungen durchzuführen, über die eingehender zu berichten, Aufgabe einer besonderen Mitteilung sein soll. Kratky fand gleiche Intensitäten in allen Parametern der Röntgenogramme bei 3 Stunden lang mit Soda behandelter Wolle (Zystinumsatz ca. 75 Proz.) wie bei unbehandelter Wolle. Es wird hierdurch bestätigt, daß der größte Teil des Zystins bei der Keratinstruktur nicht mitwirkt, selbst wenn man die exaktesten, heute zur Verfügung stehenden Röntgenstrukturuntersuchungen zur Auswertung heranzieht. Die bisherigen Ansichten anderer Autoren über die Struktur der Keratine lassen sich daher nicht in vollem Umfange aufrecht erhalten. Entweder befindet sich der größte Teil des Zystins nicht zwischen den Peptidrosten, oder, falls hier doch Zystinbindungen vorliegen sollten, können sie nicht die große Rolle spielen, die man ihnen bisher zuschrieb. Es müßten dann andere Bindungen oder Kräfte angenommen werden, welche für die Konstanz des Seitenkettenabstandes verantwortlich sein sollten. Auch der Einwand, an Stelle des Zystins seien neu entstandene Thioätherbindungen (Lanthionin) eingebaut, ist nicht stichhaltig, da man auch dann, falls diese Bindungen überhaupt bei unseren Versuchsbedingungen in größerem Ausmaße gebildet werden, Veränderungen im Röntgenogramm erwarten sollte. Die Thioätherbindung müßte eine Einschnürung und Verkleinerung des Seitenkettenabstandes bewirken.

Zusammenfassend können wir als Ergebnis dieses Abschnittes über die zystin-spezifischen Reaktionen feststellen, daß sich diese Einwirkungen auf die Festigkeit der Faser nur gering, auf die Struktur überhaupt nicht auswirken. Übertreibt man die Sodabehandlung, so treten sehr große Schädigungen auf. Da wir hierbei indessen einen Angriff auf N-Bindungen in der Wolle feststellten, ist es wahrscheinlich, daß die Zerstörung der Faser in diesen Fällen auf dem Angriff anderer Bindungsmechanismen der Wollproteine beruht.

2. Peptid-spezifische Reaktionen.

Es gibt kaum Reagenzien, welche nicht die durch Kondensation zwischen den COOH- und NH_2-Gruppen der Aminosäuren gebildeten Peptidbindungen in der Wolle beeinflussen, aber die meisten ziehen auch Zystin- und andere Bindungen in Mitleidenschaft. Wir stellten uns die Aufgabe, solche Reaktionen zu studieren, welche Peptidbindungen möglichst spezifisch angreifen. Man weiß seit langem, daß nicht-oxydierende Mineralsäuren Proteine bis zu den Aminosäuren abbauen können, ohne daß hierbei die im Zystin vorliegenden SS-Bindungen gespalten werden. Hierauf beruht die elegante kolorimetrische Bestimmungsmethode von Zystin nach Folin-Marenzi (36). Zweifelsohne kann der Angriff

der Säure nicht auf die Peptidbindungen beschränkt sein, da die übrigen in Keratinen angenommenen Bindungen im Hydrolysat nicht mehr vorliegen. Merkwürdigerweise finden sich in der ausgedehnten, chemisch orientierten Literatur der Wolle über den Zusammenhang zwischen der Festigkeit und der Zahl der Peptidbindungen keinerlei Angaben, obwohl diese Frage ein erhebliches technisches Interesse beansprucht. Man weiß zwar, daß die verschiedenen Säuren und sauren Salze bei bestimmten untersuchten Einwirkungen zu mehr oder weniger ausgeprägten Schädigungen führen, auch ist bekannt, daß sich eine Reihe von technisch wichtigen Eigenschaften der Fasern verändern, wie z. B. das Anfärbevermögen für Säurefarbstoffe usw., aber was für chemische und strukturelle Veränderungen in der Faser selbst vor sich gehen, wurde bisher noch nicht untersucht. E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn (37) fanden als Ergebnis von Röntgenuntersuchungen von mit Säuren und säureabspaltenden Salzen behandelten Wollfasern in Übereinstimmung mit den Befunden von D. A. Wilson und N. E. Gordon (38), daß ein Keratinabbauprodukt auftritt. Dieses nannten wir d-Keratin wegen der großen Ähnlichkeit mit den Röntgenogrammen von denaturierten Proteinen, die z. B. W. T. Astbury und R. Lomax (39) beschrieben haben.

Je 4 g Wollgarn wurden mit einer 1,1 n HCl bei einem Flottenverhältnis von 1:50 bei 80° ±1° C 1, 2, 3, 4, 8 und 24 Stunden lang behandelt, abgeschleudert und so lange gespült und gewässert, bis sich in den Waschflotten konstante p_H-Werte eingestellt hatten. Die mechanische Schädigung ließ sich durch Trocken- und Naßreißfestigkeiten der Garne mit dem „Schopper" ermitteln. Zur Feststellung der chemischen Veränderungen bestimmte man den N-Gehalt nach Kjeldahl, die Zahl freier Amino- und Karboxylgruppen durch Titration mit HCl vom $p_H = 1{,}20$ (3 Tage bei 20° C) bzw. NaOH (4 Stunden bei 3—5°), die Zahl der SS-Bindungen durch kolorimetrische Bestimmungen des im Hydrolysat befindlichen Zystins, den S-Gehalt nach der Methode von E. Wiesenberger (40), die Löslichkeit während des Versuches durch Rückstandsanalyse der Versuchsflotten einschließlich von N-Analysen nach Kjeldahl, die Menge in Lösung gegangener SS-Gruppen durch die Zystinanalyse in den Versuchsflotten. Hinweise für die strukturelle Eigenschaften gaben mikroskopische und röntgenographische Untersuchungen.

Bei der Einwirkung von Salzsäure auf Wolle zeigten sich chemisch in erster Linie charakteristische Veränderungen am Wollstickstoff. Dieser setzt sich in reiner Wolle zusammen aus ca. 8 Proz. (vom Gesamtstickstoff) Säureamidstickstoff, der nach den in der Proteinchemie geltenden Anschauungen mit den freien Karboxylgruppen der Asparagin- und Glutaminsäure Säureamide bildet. Ferner liegen ca. 7 Proz. des Gesamtstickstoffes als Aminostickstoff vor. Es handelt sich hierbei um den mit Mineralsäuren titrierbaren Stickstoff der Extragruppen der basischen Aminosäuren Lysin, Arginin und Hystidin[6]). Der Rest von ca. 85 Proz. des Gesamtstickstoffes stammt von den Peptidbindungen. Im Verlaufe der Salzsäurebehandlung verschiebt sich die Stickstoffbilanz deutlich. Steigende Mengen stickstoffhaltiger Proteine gehen bei der Säureeinwirkung in Lösung. In den Versuchsflotten findet sich schon zu Beginn der Reaktion ein großer Teil des Säureamidstickstoffs als NH_3. In der mit Säure behandelten Wolle sind die nach der Abspaltung von NH_3 neu gebildeten Karboxylgruppen durch Titration mit Lauge zu erfassen. Die Zahl freier basischer Gruppen nimmt zu, sowohl in der Wolle wie in den gelösten Anteilen. Diese Gruppen sind durch die Hydrolyse von Peptidbindungen entstanden. Durch Aufstellung einer Stickstoffbilanz[7]) aus den verschiedenen analytisch erfaßbaren Größen läßt sich die Anzahl aufgespaltener Peptidbindungen errechnen.

Bei der Säurebehandlung der Wolle werden Schwefelbindungen nicht verändert. Die Abspaltung von Säureamidstickstoff ist deutlich. Am wichtigsten ist zweifelsohne der Angriff der Säure auf die Peptidbindungen der Wollproteine. Die mechanischen Messungen haben ergeben, daß die Festigkeit sehr stark abnimmt. Es brauchen nur wenige Peptidbindungen aufgespalten zu werden,

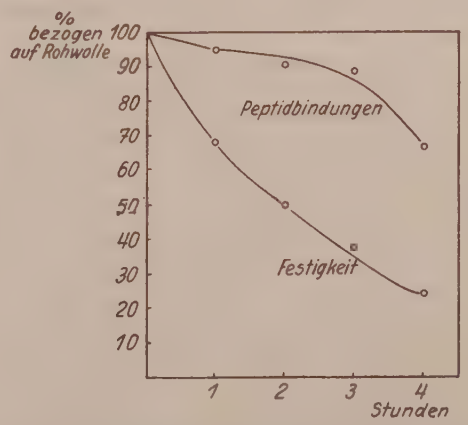


Fig. 14. Graphische Darstellung der zeitlichen Abnahme der Faserfestigkeit und der Aufspaltung von Peptidbindungen bei mit 1,1 n HCl bei 80° C behandelten Wollgarnen.

[6]) Mit erfaßt werden hierbei auch die Amino-Endgruppen der Polypeptidketten. Gegenüber der großen Anzahl von Extragruppen der basischen Aminosäuren fallen die Endgruppen nicht ins Gewicht.

[7]) Die Ergebnisse sollen a. a. O. ausführlich wiedergegeben werden.

um starke mechanische Schäden auszulösen. Die Veränderung der Faserfestigkeit sowie der Umsatz der Peptidbindungen in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer ist in der Fig. 14 graphisch dargestellt. Die Abhängigkeit zwischen Festigkeit und der Zahl der Peptidbindungen geht auch aus dem Teil c) der Gegenüberstellung der Fig. 14 hervor.

Zusammenfassend kann man sagen, daß schon aus dieser kleinen Studie über die Einwirkung von Salzsäure auf Wolle hervorgeht, daß Spaltungen von Peptidbindungen sich auf die Festigkeit viel stärker auswirken als eine Sprengung von Zystinbindungen im selben Verhältnis bezogen auf die Zahl ursprünglich vorhandener Bindungen. In der Praxis der Wollveredlung wird man es am häufigsten mit Reaktionen zu tun haben, welche im Gegensatz zu den hier geschilderten Einwirkungen nicht spezifisch entweder nur Zystin- oder nur Peptid- und Salzbindungen angreifen. Wir haben kürzlich über die Behandlung von Wolle mit wässerigen Lösungen von Wasserstoffsuperoxyd berichtet, wobei gefunden wurde, daß dieses Oxydationsmittel ein Musterbeispiel für eine nicht spezifisch wirksame Reaktion darstellt. Wegen der praktischen Bedeutung dieser Umsetzung seien die wichtigsten Ergebnisse im folgenden in Kürze wiedergegeben.

3. Die Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf Wolle.

Es ist schon lange bekannt, daß bei starker Oxydation von Keratinen mit Peroxyden in den Behandlungsbädern Schwefelsäure auftritt (41). Der Schwefel kann hierbei nur aus dem Zystin stammen. M. Harris und A. L. Smith (42) untersuchten die Oxydation der Wolle eingehend und fanden, daß bis zu einer Konzentration von 3 Proz. H_2O_2 und einer Temperatur von 50° C kein namhafter Abbau der Wolle stattfindet: der Schwefelgehalt bleibt konstant, während der Stickstoffgehalt langsam absinkt. Die Zahl der intakten Zystinbindungen fällt ab. Harris nimmt an, daß sich aus den SS-Gruppen des Zystins durch Anlagerung von Sauerstoff Disulfidoxyde bilden, wie sie bei Zystin von anderen Autoren (43) wahrscheinlich gemacht wurden. Die Zystinanalyse ist nach Harris keine einwandfreie Methode zur Verfolgung der Oxydation, da die Disulfidoxyde bei den Bedingungen der Hydrolyse in Zystin zurückverwandelt werden. Am empfindlichsten hat sich die Alkalilöslichkeit zur Erkennung von Bleichschäden erwiesen (44). Diese nimmt bei längerer Einwirkung von H_2O_2 stark zu. Auch an den Aminogruppen der Wollproteine stellten Harris und Smith Veränderungen fest. Bei der Titration mit Salzsäure findet man eine Abnahme der Anzahl freier Aminogruppen. Harris deutete diesen Befund ursprünglich durch Annahme einer oxydativen Veränderung der Aminogruppen, führte jedoch in einer späteren Arbeit zusammen mit H. A. Rutherford (45) die Verminderung der Zahl freier Aminogruppen auf die zunehmende Zahl von Schwefelsauerstoffsäuren in den Wollproteinen zurück, die aus dem Zystin im Verlauf der Oxydation entstehen sollen[7a]).

Elöd, Nowotny und Zahn (46) zeigten, daß man imstande ist, Wolle mit 3proz. Lösungen von H_2O_2 bei 60° in 18 Stunden bei p_H-Werten von 4,0 beinahe restlos unter Abbau in Lösung zu bringen, in einem Medium also, bei dem sonst eine Peptidspaltung ohne Anwesenheit des Oxydationsmittels nicht erfolgen würde. Die Flotten dieser Versuche enthielten kein hochmolekulares Eiweiß. Somit war zweifelsohne die Mehrzahl der Peptidbindungen gesprengt worden.

In Fortführung dieser Versuche fanden wir, daß Wasserstoffsuperoxyd Zystin-, Peptid- und Salzbindungen angreift, wobei es bei stärkeren Einwirkungen zum Auftreten von d-Keratin neben α-Keratin kommt und die Faserstruktur verlorengeht. Die Ergebnisse der Einwirkung einer 2,85 gewichtsproz. H_2O_2-Lösung auf Wollgarnproben bei 80° C bei Versuchszeiten bis zu 4 Stunden sind in der Tabelle VII zusammengestellt.

Besonders ausgeprägte Kennzeichen des oxydativen Abbaues der Wolle mit H_2O_2 sind die starke Abnahme der Anzahl von Zystinbindungen, die sich in der ansteigenden Löslichkeit bemerkbar machende Peptidspaltung und eine Abnahme der Anzahl frei titrierbarer Aminogruppen. Ein Vergleich der Analysenzahlen lehrt, daß die prozentuale Abnahme der Anzahl der Aminogruppen von der gleichen Größenordnung wie die Verringerung der Zystinbindungen ist. Die Annahme, daß der einzige und wichtigste Angriffspunkt der Oxydation der Wolle die SS-Bindungen darstellen würden, läßt sich mit diesen experimentellen Ergebnissen ohne weiteres nicht in Einklang bringen. Dies geht auch aus den hohen Festigkeitsverlusten hervor, die bei einer alleinigen Spaltung von Zystinbindungen ein wesentlich geringeres Ausmaß annehmen würden. Somit ist die beobachtete Parallelität zwischen der Aufspaltung des Zystins und der mechanischen Schädigung keine ursäch-

[7a]) Nach A. Schöberl (35) entsteht aus Zystin bei der Oxydation mit H_2O_2 Zysteinsäure.

Tabelle VII.

Chemische Eigenschaften von mit einer 2,85 Gew.-Proz. H_2O_2-Lösung bei 80° behandelten Wollgarnen.

Vers. Zeit Stdn.	N Proz.	S Proz.	Plumbit-Probe	Proz. Cystin	Zystin Abnahme Proz.	Gelöste Anteile Proz.	HCl-Aufnahme Milli Vale je g Wolle	HCl-Aufnahme Abnahme in Proz.	NaOH-Aufnahme Milli Vale je g Wolle	Alkalilöslichkeit in n/10 NaOH 1 Stunde bei 65° in Proz.	Mechanische Schädigung (aus Trocken- und Naß-Garnreißfestigk.) in Proz.
0	15,50	3,32		11,2	0	0	0,65	0,0	0,70	11	0
0,5	14,17	3,32	+	11,2	0	0,27	0,64	1,5	0,72	11	1,6
1,0		3,08	+	9,2	18,2	0,35	0,55	15	0,85	35	7,0
1,5	14,42	3,15	+	8,1	28,0	0,65	0,48	26	0,85	78	15,1
2,0	16,03	2,57	+	6,0	46,2	1,21	0,39	40	1,03	95	27,2
2,5	14,95	3,19	+	5,2	53,8	1,75	0,35	46	1,00	97	37,1
3,0	14,86	2,82	+	3,4	69,5	4,28	0,36	45		98	74,2
3,5	14,73	2,81	+	1,6	85,6	11,50*)	0,25	62		100	89,3
4,0	14,33	2,70	+	1,3	88,6	9,73**)	0,21	68		100	96,2

*) enthält 18,59 Proz. N; **) enthält 15,95 Proz. N.

liche, sondern rührt daher, daß eine Koexistenz verschiedener Einflüsse besteht.

Wie bereits betont, sind die wenigsten Einwirkungen spezifisch für bestimmte Bindungsmechanismen in der Wolle. Selbst Wasser greift bei höherer Temperatur nicht nur Zystinbindungen an. A. Schöberl (47) beobachtete neben dem Absinken der Zahl intakter Zystinbindungen eine stark zunehmende Löslichkeit der Wolle während der Wasserkochung. Die gelösten Anteile enthalten abgebaute stickstoffhaltige Proteine, ein sicheres Kriterium für eine stattgefundene Spaltung von Peptidbindungen. Wir fanden, daß eine Phosphatpufferlösung vom $p_H = 5{,}7$ in 10 Tagen bei 80° die Festigkeit um 70 Proz. verringert. Neben einer 40proz. Umsetzung der Zystinbindungen fand ein Angriff auf die N-Bindungen der Wolle statt. Auch die Reaktion der Wolle mit Wasser von 80° und Metallen, wie Kadmium (48) und Hg, führt neben einer weitgehenden Spaltung von SS-Bindungen zu einer merklichen Löslichkeit der Wolle, wobei wieder N-haltige Abbauprodukte in den Flotten auftreten. Bei einem Vergleich dieser Umsetzung mit der Reaktion der Wolle mit Thioglykolsäure nach Patterson und Mitarbeitern ergibt sich, daß diese Autoren hinsichtlich der Beeinflussung der Peptidbindungen unter milderen Bedingungen gearbeitet haben.

Während die Hauptmenge des Zystins bei der Kadmiumreaktion unter Bildung von CdS umgesetzt wird, fanden wir daneben neuerdings Kennzeichen für das Vorliegen von Ker—S—Cd—S—Ker-Bindungen in Cd-Roßhaaren. Behandelt man Roßhaare 10 Tage lang mit Kadmium und Wasser von 80°, so verschwindet die Plumbitreaktion selbst bei kochender Einwirkung der alkalischen Bleiazetatlösung völlig. Entfernt man hierauf das eingelagerte Sulfid durch Behandlung mit Salzsäure, so tritt wieder eine schwache Plumbitreaktion auf. Bei der kolorimetrischen Zystinbestimmung lassen sich ca. 30—40 Proz. der ursprünglichen Zystinmenge nachweisen. Es konnte gezeigt werden, daß ein Teil dieses Restzystins sekundären Prozessen bei der Zystinanalyse seine Entstehung verdankt. Führt man nämlich zwecks Zystinanalyse den Aufschluß von Kadmiumkeratinen sowie die vorherige Entfernung des eingelagerten CdS unter peinlicher Fernhaltung von Luftsauerstoff durch, so finden sich merkliche Mengen von Thiol in der Aufschlußlösung. Man kann diese Befunde am besten deuten, wenn man das Vorliegen von Merkaptidgruppen in Kadmiumkeratinen annimmt, welche mit alkalischer Bleiazetatlösung nicht aufgespalten werden und daher auch keinen Anlaß zu einem

positiven Ausfall der Plumbitproben geben können. Beim Ansäuern dagegen entstehen aus Merkaptiden wieder die Merkaptane und Metallsalze. Das Thiol wird rasch zu Disulfidgruppen oxydiert. Ähnliche Komplikationen treten auch bei Hg-Keratinen auf. Wir wollen eine eingehende Besprechung zurückstellen, bis über diese und andere eigenartige Umsetzungen bei Hg- und Cd-Keratinen noch mehr experimentelles Material vorliegt.

4. Zystingehalt und Faserschädigung.

Man wird bei Betrachtung der eben skizzierten Ergebnisse an der Schafwolle mit der Aussage nicht fehl gehen, daß der Zusammenhang zwischen chemischen Bindungen und Faserfestigkeit außerordentlich verwikkelt ist. Aus der Zahl aufgespaltener chemischer Bindungen auf die eingetretene Faserschädigung zu schließen, ist daher nicht ohne genauere Überprüfung des für das betreffende zur Frage stehende Reagens möglich. Schöberl (49) nimmt an, daß sich aus der Feststellung der Differenz zwischen Gesamtschwefel und Zystinschwefel Wollschäden zahlenmäßig festlegen lassen. Es ist zweifelsohne sehr zweckmäßig, die Wirkungsweise der einzelnen Reagenzien auf die Wolle festzustellen, und es ist das Verdienst von Schöberl, daß er mit als erster quantitative organisch-chemische Gesichtspunkte auf die Wollfaser angewandt hat. Dagegen kann die einseitige Betrachtungsweise, bei der lediglich die Zystinbindungen untersucht werden, und aus ihrer Anzahl die Wollschädigung ermittelt werden soll, zu schwerwiegenden Mißverständnissen in der Praxis führen. Ein Färber, der z. B. mit sauren Farbstoffen in saurem Bad färbt, kann niemals durch Zystinanalyse die Schädigung messend verfolgen, da, wie bereits wiederholt betont, bei rein sauren Einwirkungen praktisch keine Veränderung des Zystingehaltes stattfindet. Bei anderen Reaktionen wieder, wie bei der Bleiche, ist die Zystinanalyse zur Messung von Wollschäden — wie wir gefunden haben — gut geeignet. Alkalische und reduktive Behandlungen bringen große Zystinschädigungen mit sich, ohne daß damit eine erhebliche Faserschädigung verbunden zu sein braucht. Wir haben diese Beziehungen untersucht, indem wir verschiedenartige, in der Technik der Wollveredlung vorkommende Behandlungen bei schwachen bis starken Schädigungen auf den Zusammenhang zwischen Zystingehalt und mechanischen Eigenschaften geprüft haben. Die Ergebnisse dieser Versuche sind an anderer Stelle ausführlich dargestellt (50), wir wollen hier nur in der Tabelle VIII eine besonders anschauliche Reihe herausgreifen, um zu zeigen, daß bei jeder Einwirkung der Zusammenhang zwischen Zystingehalt und mechanischen Eigenschaften ein anderer ist und daher Schlüsse zwischen diesen beiden Größen nur möglich sind, wenn man die Art der einwirkenden Stoffe kennt.

Tabelle VIII. Zystingehalt und mechanische Eigenschaften bei verschiedenen Behandlungen.

Vorbehandlung	N Proz.	S Proz.	Zystingehalt in Proz.	Zystinschädigung Abnahme in Proz.	Mechanische Schädigung in Proz.	Zunahme der Farbsäureaufnahme in Proz.
Unbehandelt . . .	15,50	3,32	12,2	0	0	0
HCl, $p_H = 1{,}3$ . .	14,35	3,59	12,0	2,0	1,5	2,0
Karbonisation . . .	15,98	3,69	12,0	2,0	3,8	
Seife-Soda-Wäsche .	14,14	3,32	10,0	18,0	12,1	5,0
Soda, 2 Proz., 80° .	15,43	2,19	6,2	49,2	22,5	39,8
Küpenfärberei . . .	14,51	2,44	5,9	51,7	27,1	40,1
Trypsin	16,03	3,45	10,8	11,5	51.7	
HCl, $p_H = 0{,}0$ . .	15,38	3,61	12,5	— 3,0	55,5	34,9
HCl, $p_H = 0{,}0$*) . .	15,45	4,12	13,5	—11,2	96,7	77

Dagegen scheint die Zunahme der Farbsäuregeschwindigkeit, wie man aus der letzten Spalte der Tabelle VIII ersehen kann, von der Art der Behandlungen wenig abzuhängen und daher allgemeiner anwendbar zu sein. Diese Methode wurde von E. Elöd und Mitarbeitern (51) ausgearbeitet und beruht auf der Erscheinung, daß bei Schädigungen die Packung der Mizellpakete gelockert wird und die Geschwindigkeit der Aufnahme saurer Farbstoffe gegenüber unbehandelter Wolle bei geeigneten Bedingungen (70° C 10 Minuten 0,25proz. Kristallponceaulösung von $p_H = 1{,}3$) zunimmt.

*) Diese Probe wurde länger behandelt.

5. Die Wolle, ein Peptidproblem.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, Wege aufzuzeigen, wie man die Rolle der verschiedenen Bindungsmechanismen in der Wolle für die Eigenschaften dieser Faser an ihren Veränderungen studieren kann, wenn die Wollproteine ausgewählten, möglichst spezifischen chemischen Einwirkungen ausgesetzt werden. Greift man aus den Ergebnissen z. B. die Frage nach dem Zusammenhang der Faserfestigkeit mit der Zahl intakter chemischer Bindungen heraus, so ergibt sich, daß die Festigkeit ungleich empfindlicher auf Veränderungen am Stickstoff als am Schwefel anspricht. In der Fig. 15 ist die Abhängigkeit der Festigkeit von a) der Zahl Zystinbindungen im Falle der Einwirkung von Sodalösung und b) der Zahl der Peptidbindungen nach Behandlung mit Salzsäure und c) der Zahl der Zystinbindungen bei der Peroxydbleiche wiedergegeben. Man erkennt ohne weiteres den geringen Einfluß der Zystinbindungen auf die Festigkeit, während sich eine Verminderung der Peptidbindungen sehr stark auswirkt. Die etwa lineare Beziehung zwischen Festigkeit und Zystinbindungen bei oxydierter Wolle liegt zwischen diesen beiden Grenzfällen und erklärt sich zwanglos durch den gleichzeitigen Angriff von Wasserstoffperoxyd auf Zystin- und Peptidbindungen.

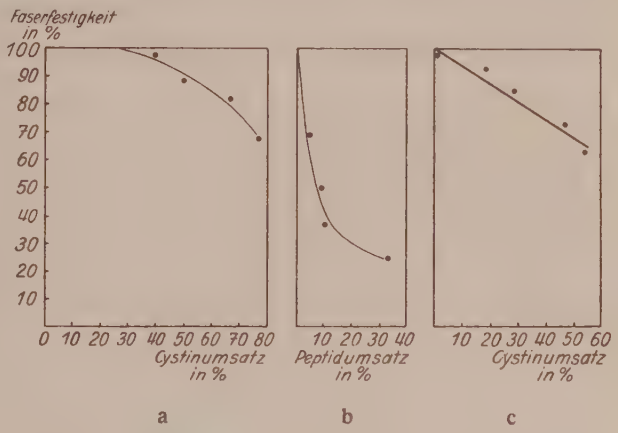


Fig. 15.

Gegenüberstellung der Beziehungen zwischen Faserfestigkeit und Aufspaltung chemischer Bindungen im Wollprotein:

a) mechanische Schädigung und Zystinumsatz bei mit Soda behandelten Fasern,

b) mechanische Schädigung und Aufspaltung von Peptidbindungen bei mit Salzsäure behandelten Wollgarnen,

c) mechanische Schädigung und Zystinumsatz bei mit Wasserstoffsuperoxyd behandelten Wollgarnen.

Diese Ergebnisse bestätigen nachdrücklich die Auffassung, wonach die Peptidbindungen in der Wolle wichtigste Funktionen versehen. Die Wolle erscheint somit in erster Linie als ein Peptidproblem. Die analytische Bestimmung dieser Gruppen im Rahmen einer Stickstoffbilanz ist in vielen Fällen unumgänglich. Wir betrachten es als eine wichtige Aufgabe der gegenwärtigen Wollforschung, eine elegantere Methode zur Bestimmung der intakten Peptidbindungen auszuarbeiten. Dann wird es möglich sein, eine Fülle alter Problemstellungen erneut zu überprüfen und neuartige Fragen aufzuwerfen.

Zusammenfassung.

1. Roßhaare zerfallen beim enzymatischen Abbau mit Trypsin in lange, fibrillare Gebilde (Makrofibrillen), die Übergangsstrukturen zwischen der intakten Faser und den Spindelzellen darstellen.

2. In flüssiger Luft zerkleinerte, aus Schafwolle isolierte Spindelzellen zeigen bei der übermikroskopischen Untersuchung Querbruchlinien, die aus den Bruchkanten der einzelnen, noch kleineren Bauelemente (Fibrillen und Makrofibrillen) bestehen.

3. Für die Laminarstruktur der Polypeptidketten in Keratinen konnten analoge Beispiele bei kollagenen Naturstoffen, wie verhornter Menschenhaut und tierischen Sehnen, gefunden werden.

4. Es wird betont, daß in den Keratinen die verschiedenartigsten Bindungen vorliegen, deren Reaktionsfähigkeit sehr verschieden ist. Reaktionen, welche spezifisch nur ein und dasselbe chemische Bindungssystem angreifen, sind selten. Bei Folgerungen aus chemischen Reaktionen auf mechanische Veränderungen wurden diese Tatsachen bisher wenig berücksichtigt.

5. Zu den spezifisch Zystin spaltenden Reaktionen gehört die Reduktion der Wolle mit Thioglykolsäure in der Nähe des isoelektrischen Punktes. Ein weiteres Beispiel wird in der Reaktion der Wolle mit Lösungen von Quecksilber(2)-nitrat bei Zimmertemperatur aufgezeigt. In vier Wochen wird rund $^1/_3$ der Zystinbindungen umgesetzt, ohne daß die Festigkeit in nennenswertem Umfange vermindert wird. Die Einwirkung alka-

lischer Reagenzien läßt sich derart lenken, daß in den Anfangsstadien die Reaktion mit den Zystingruppen vorherrscht.

6. Die wichtigste peptidspezifische Reaktion ist die Einwirkung von nicht-oxydierenden Säuren auf Wolle. Mit 1,1 n-HCl treten nach Behandlung bei 80° C starke mechanische Schädigungen auf. Chemische Veränderungen werden nur am Stickstoff festgestellt, Ammoniak wird abgespalten und Peptidbindungen in zunehmendem Ausmaß gesprengt.

7. Die meisten Reaktionen der Wolle richten sich nicht spezifisch gegen einzelne Bindungsarten der Wollproteine. Bei einer Untersuchung der Reaktion der Wolle mit wässerigen Lösungen von Wasserstoffsuperoxyd wurde gefunden, daß sämtliche Bindungsmechanismen angegriffen werden. Auch die Behandlung mit heißem Wasser oder mit Metallen wie Hg und Cd greift neben den Zystinbindungen am Wollstickstoff an. In Kadmiumkeratinen liegt die Hauptmenge des Kadmiums als CdS, ein kleiner Teil in Merkaptidgruppen vor.

8. Es ist nicht möglich, durch die Bestimmung der Zahl intakter SS-Gruppen allgemein die Faserfestigkeit bzw. die mechanische Schädigung herzuleiten. Die Beziehung dieser Größen hängt entscheidend von der Vorbehandlung der Wolle ab. Die Faserfestigkeit ist vor allem eine Funktion der Zahl der intakten Peptidbindungen in der Wolle.

Schrifttum.

1. E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn, Kolloid-Z. **93**, 50 (1940); **95**, 81 (1941); E. Elöd, ebenda **96**, 284 (1941).
2. H. Reumuth, Dissertation (Aachen 1937).
3. H. Reumuth, Melliands Textilber. **23**, 1, 53 (1942).
4. G. Satlow, Klepzigs Textilzeitschr. **45**, 156, 198, 280, 459 (1942).
5. R. Burgess, J. Text. Inst. **25**, T 289 (1934).
6. E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn, Ber. Dtsch. chem. Ges. **74**, 1759 (1941).
7. H. Zahn, Melliands Textilber. **22**, 305 (1941).
8. J. Bartsch, Melliands Textilber. **12**, 760 (1931); **13**, 21 (1932).
9. A. Herzog und P. A. Koch, Melliands Textilber. **17**, 15 (1936), Fig. 175
10. H. Zahn, Melliands Textilber. **23**, 157 (1942).
11. H. Zahn, Melliands Textilber. **21**, 505 (1940) sowie loc. cit. 7.
12. H. Reumuth, Klepzigs Textilzeitschr. **45**, 288 (1942).
13. W. T. Astbury und A. Street, Philos. Trans. Roy. Soc. A **230**, 75 (1932); **232**, 333 (1934).
14. H. Neurath, J. physic. Chem. **44**, 296 (1940).
15. L. W. Janssen, Protoplasma **33**, 410 (1939).
16. H. Nowotny und H. Zahn, Z. physik. Chem., Abt. B **51**, 265 (1942).
17. E. Schiebold, Kolloid-Z. **96**, 284 (1941).
18. A. J. P. Martin und R. L. M. Synge, Biochem. J. **35**, 118 (1941).
19. E. Abderhalden und Voitinovici, Z. physiol. Chem. **52**, 348 (1907).
20. Marston, Bull. Nr. 38, Austral. Counc. Scient. Ind. Res. **1928**.
21. R. I. Block, J. biol. Chemistry **128**, 181 (1939).
22. J. Barritt, Biochem. J. **28**, 1 (1934).
23. J. B. Speakman und Townend, Nature **139**, 411 (1937).
24. H. B. Vickery, J. biol. Chemistry **122**, 325 (1940).
25. Man vergleiche hierzu die Betrachtung von K. H. Meyer in „Hochpolymere Chemie", Bd. II (1940).
26. W. I. Patterson, W. B. Geiger, L. R. Mizell und M. Harris, J. Res. Nat. Bur. Stand. **27**, 89 (1941).
27. D. G. Simonsen, J. biol. Chemistry **94**, 323 (1931).
28. C. E. Washburn, J. Soc. Dyers Col. **17**, 261 (1901).
29. M. Harris, J. Res. Nat. Bur. Stand. **15**, 63 (1935).
30. M. H. Horn, D. B. Jones und S. J. Ringel, J. biol. Chemistry **138**, 141 (1941).
31. E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn, Melliands Textilber. **23**, 58 (1942).
32. V. Vigneaud, G. B. Brown, J. biol. Chemistry **138**, 151 (1941).
33. W. T. Astbury und A. Street, Philos. Trans. Roy. Soc. A **230**, 75 (1932); W. T. Astbury und H. J. Woods, Philos. Trans. Roy. Soc. A **232**, 333 (1934).
34. J. B. Speakman, J. Text. Inst. **27**, P 231 (1936).
35. A. Schöberl, Z. physiol. Chem. **216**, 193 (1933).
36. O. Folin und A. D. Marenzi, J. biol. Chemistry **83**, 103 (1929).
37. E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn, Melliands Textilber. **21**, 617 (1940).
38. D. A. Wilson und N. E. Cordon, J. Amer. chem. Soc. **55**, 3896 (1933).
39. W. T. Astbury und R. Lomax, J. chem. Soc. (London) **1935**, 846.
40. E. Wiesenberger, Mikrochemie **29**, 73 (1941).
41. F. Breinl und O. Baudisch, Z. physiol. Chem. **52**, 159 (1907).
42. M. Harris und A. L. Smith, J. Res. Nat. Bur. Stand. **17**, 577 (1936); **18**, 623 (1937).
43. G. Toennies und Th. F. Lavine, J. biol. Chemistry **105**, 115 (1934).
44. M. Harris und A. L. Smith, J. Res. Nat. Bur. Stand. **18**, 309 (1936).
45. H. A. Rutherford und M. Harris, J. Res. Nat. Bur. Stand. **20**, 559 (1938).
46. E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn, Kolloid-Z. **93**, 50 (1940).
47. A. Schöberlund, P. Rambacher, Biochem. Z. **306**, 269 (1940); Klepzigs Textilzeitschr. **44**, 1172 (1941); **45**, 41 (1942).
48. A. Schöberl, Forschungsber. des Zellwolle-Kunstseiderings **1**, 28 (1941); Ber. Dtsch. chem. Ges. **74**, 1225 (1941); E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn, Ber. Dtsch. chem. Ges. **74**, 1759 (1941); Melliands Textilber. **23**, 58 (1942).
49. A. Schöberl, loc. cit., ferner Angew. Chem. **53**, 227 (1940); **54**, 303 (1941); Klepzigs Textilzeitschr. **42**, 369 (1939); Zellwolle, Kunstseide, Seide **46**, 147 (1941); Das Deutsche Wollen-Gewerbe (Januar 1942).
50. E. Elöd, H. Nowotny und H. Zahn, Klepzigs Textilzeitschr. **45**, 663 (1942).
51. E. Elöd und H. Reutter, Melliands Textilber. **21**, 346 (1940).

Aus dem Deutschen Forschungsinstitut für Textilindustrie Dresden (Direktor: Prof. Dr. W. Schramek).

Die Reaktion Metallhydroxydlösung—Zellulosefaser.

IV. Mitteilung. Röntgenoptische Untersuchung der Gitterumwandlungen an faseriger Hydratzellulose, die aus Lösungen der natürlichen Zellulose regeneriert wurde.

Von W. Schramek und O. Succolowsky (Dresden)
gemeinsam mit Elfriede Seidel.
(Eingegangen am 16. Mai 1942)

Bei der Einwirkung von Natronlauge auf natürliche Zellulosefasern wurde bei verschiedenen Konzentrationen der Reaktionslösung beobachtet, daß die Reaktion, welche das ursprüngliche Gitter der kristallinen Zellulosesubstanz in charakteristischer Weise verändert, sich nicht auf sämtliche Teile der Fasern erstreckt, sondern in Abhängigkeit von der Laugenkonzentration größere oder geringere Anteile der Fasersubstanz unverändert läßt, und zwar selbst dann, wenn man praktisch unbegrenzte Zeit die Zellulose dem Reaktionsmedium aussetzt.

In anderen Gebieten der Laugenkonzentration trat zwar eine vollständige Umwandlung der kristallinen Zellulosesubstanz ein; indessen wurden bei der röntgenoptischen Analyse der Umwandlungsprodukte Mischdiagramme zweier verschiedener Reaktionsprodukte beobachtet, deren Mengenverhältnis in Abhängigkeit von der Laugenkonzentration variabel war.

Der zuerst geschilderte Reaktionsmechanismus spielt sich in dem Konzentrationsgebiet wässeriger Natronlaugen zwischen 10 und 15 Proz. Ätznatron ab[1]), während der zweite Vorgang zwischen 20 und 30 Proz. Ätznatron beobachtet und genauestens untersucht wurde[2]).

Für die Vorgänge wurde verschiedentlich ein eindeutiger Reaktionsmechanismus der Zellulosesubstanz gesucht.

Versuche, die Reaktion Natronlauge—Zellulosefaser auf Grund sorgfältigster Gleichgewichtsmessungen und Bodenkörperanalysen nach den Gesetzen der Phasenregel zu erklären, befriedigten nicht, da das Fehlen von Mischkristallbildung die homogene Reaktionsweise ausschloß, andererseits aber den Gesetzmäßigkeiten des heterogenen Reaktionstyps sowohl die chemisch-analytischen Untersuchungen als auch die Ergebnisse der Röntgenstrukturanalyse zu widersprechen schienen.

Die Untersuchung der histologischen Beschaffenheit der natürlichen Fasern (Baumwolle und Ramie) führte schließlich zu der Annahme, daß die Reaktion Natronlauge-Zellulose zwar grundsätzlich nach den Gesetzmäßigkeiten der Phasenregeln im Sinne des heterogenen Reaktionstyps verläuft, daß aber der ungestörte Ablauf der Reaktion durch die histologische Struktur der Zellulosefaser gehemmt wird. Hierdurch bilden sich zwar tatsächliche Gleichgewichtszustände zwischen Zellulose, Reaktionsmedium und Umsetzungsprodukt heraus, doch scheint es sich nicht um echte chemische Gleichgewichte im Sinne der Phasenregeln zu handeln.

Der heterogene Reaktionstyp fordert, daß ein im Reaktionsmittel befindlicher Bodenkörper, der bei Eintreten der zu seiner Umsetzung erforderlichen Reaktionsbedingungen sich umzusetzen beginnt, sofort vollständig in das Reaktionsprodukt übergeht.

Wenn aber infolge histologischer Hemmungen die vollständige Umsetzung der Zellulose in Natronzellulose erst bei sehr viel höheren Ätznatronkonzentrationen möglich wird, als die Umsetzungsreaktion überhaupt beginnt, mußte beim Vorliegen des heterogenen Reaktionstyps erwartet werden, daß die vollständig in Natronzellulose umgewandelte kristalline Substanz der Faser auch in denjenigen geringeren Konzentrationen des Reaktionsmechanismus stabil ist, in welchen bei direkter Einwirkung auf die natürliche Faser nur eine unvollständige Umsetzung erzielt werden kann[3]).

Diese Annahme wurde durch das Experiment bestätigt. Ist so bereits mit hoher Wahrscheinlichkeit das Vorliegen des heterogenen Reaktionstyps gegeben, so muß außerdem gefordert werden, daß bei Beseitigung der histologischen Hemmungen die Reaktion Zellulose—Metallhydroxydlösung nunmehr eindeutig im Sinne des heterogenen Reaktionstyps verläuft, d. h. daß bei Eintreten entsprechender Reaktionsbedingungen,

[1]) G. v. Susich und Wolff, Z. physik. Chem. **8**, 221 (1930); C. Schubert, Dissertation (Dresden 1932), 60; K. Heß und C. Trogus, Z. physik. Chem., Abt. B **2**, 391 (1931); W. Schramek, Kolloid-Beih. **40**, 147 (1934).

[2]) K. Heß und C. Trogus, Z. physik. Chem., Abt. B **2**, 391 (1931); W. Schramek, Kolloid-Beih. **40**, 118 (1934); W. Schramek und H. Görg, Kolloid-Beih. **42**, 307 (1935).

[3]) W. Schramek, Kolloid-Beih. **40**, 152 oben (1934).

also in dem hier geschilderten Falle bei etwa 9 Proz. Ätznatronkonzentration der wässerigen Natronlauge, die gesamte kristalline Zellulosesubstanz in Natronzellulose übergeführt wird.

Die chemisch-analytische Prüfung der Alkaliaufnahme an aus Lösungen gewonnenen regenerierten Zellulosefasern läßt eine Bestätigung dieser Forderung nicht erkennen, wie aus sorgfältigen Untersuchungen[4]) hervorgeht. Indessen ist auf dem dort eingeschlagenen Versuchswege eine Beweisführung nicht möglich, da die adsorptiven Vorgänge an den Zellulosefasern alles in stärkster Weise überlagern und eine chemisch-analytisch-quantitative Verfolgung der die kristalline Fasersubstanz erfassenden Reaktion ausschließt.

So blieb als einziger Weg zur Verfolgung der Umwandlungsreaktion Zellulose—Natronlauge zunächst die Röntgenstrukturanalyse an künstlich hergestellten Zellulosefasern ohne hemmende histologische Elemente, und zwar in der gleichen Weise, wie sie verschiedentlich bei der Untersuchung der gleichen Reaktion an natürlichen Fasern erfolgreich angewendet worden ist.

Derartige künstlich hergestellte Fasern sind in den bekannten Kupfer- und Viskose-Kunstseiden seit langem und in den Kupfer- und Viskose-Zellwollen seit einiger Zeit bekannt. Sie bestehen durchweg aus Hydratzellulose, sie haben die gleiche Kristallstruktur wie die aus natürlichen Fasern unter Erhaltung des Faserverbandes gewonnenen Hydratzellulosefasern. Da sie aber aus Lösungen hergestellt werden, die nur unter vollständiger Zerstörung des histologischen Fasergefüges der natürlichen Fasern gewonnen sind, können bei Ihnen die bei natürlichen Fasern angenommenen Hemmungen des Reaktionsverlaufes als ausgeschlossen gelten.

Den Versuchen in der oben geschilderten Richtung stellten sich zunächst beträchtliche Schwierigkeiten in den Weg, die bis heute auch nur teilweise überwunden werden konnten.

Die Schwierigkeiten lagen einmal in der Tatsache, daß die künstlich hergestellten Hydratzellulosefasern in Natronlauge, und zwar gerade in den für die beabsichtigten Feststellungen entscheidenden Konzentrationsgebieten hoch quellbar, bzw. sogar teilweise löslich sind. Dann war ihre Interferenzfähigkeit gering, insbesondere weil die Orientierung der Kristallite in Richtung der Faserachse nicht jenen hohen Grad erreichte, wie bei den natürlichen Fasern.

In den letzten Jahren ist es aber gelungen, künstliche Zellulosefasern herzustellen, die eine ausgezeichnete Interferenzfähigkeit besitzen und in der Parallelorientierung der kristallinen Bausteine in Richtung der Faserachse den Grad der natürlichen Fasern nicht nur erreichen, sondern sogar übertreffen (s. Tafel I, Fig. 1 und 2).

Mit derartigen hochorientierten Zellulosefasern konnten mit Aussicht auf Erfolg Umwandlungsreaktionen vorgenommen werden, welche die Möglichkeit einer Gegenüberstellung mit den gleichen Reaktionen an natürlichen Fasern erwarten ließen.

1. Der Reaktionsverlauf bei der Einwirkung wässeriger Natronlauge auf künstlich hergestellte Hydratzellulosefasern in dem Konzentrationsgebiete zwischen 0 und 18 Proz. Ätznatron.

Läßt man wässerige Natronlaugen von 1 Proz. steigend bis zu 8 Proz. NaOH auf derartige Fasern einwirken und verfolgt den Einfluß des Reaktionsmittels unter Zuhilfenahme der Röntgenstrukturanalyse, so findet man in völliger Übereinstimmung mit den natürlichen Zellulosefasern, daß die Gitterkonstanten der Hydratzellulose unverändert bleiben. Bei 8,5 Proz. NaOH aber wird bereits eine Veränderung im Diagramm festgestellt, welche darauf hindeutet, daß die kristalline Substanz eine Umwandlung erfahren hat. Bei 9 Proz. Ätznatron wird die Interferenzbildung so schwach, daß die Zuordnung der noch immer deutlich erkennbaren Interferenzpunkte zu bestimmten Gittertypen kaum noch möglich ist. Das ist auch noch bei 9,5 Proz. Ätznatronlauge der Fall. Erst bei etwa 11 Proz. NaOH kann man wieder von deutlichen Interferenzen sprechen, die sich zur Vermessung eignen. Durch Vergleich mit diesem Diagramm kann die bei 10 Proz. Ätznatron beobachtete Umwandlungsform der Zellulose auch als reine Na-Cell I angesprochen werden. Wenn auch die Interferenzen noch unscharf sind, so liegen sie doch an charakteristischer Stelle der Na-Cell I-Interferenzen. Eine Entscheidung in diesem Sinne kann für die zwischen 8,5 Proz. NaOH und 9,5 Proz. NaOH erhaltenen Diagramme nicht getroffen werden, da die Interferenzpunkte nicht nur schwach, sondern auch vollständig verwischt sind. Auch ist die Reproduzierbarkeit in diesem Gebiete außerordentlich schwierig, und es scheint, als ob unter dem Einfluß geringster Abweichungen der Reaktionsbedingungen in diesem Gebiet Mischdiagramme entstehen, welche die Zuordnung zu einem bestimmten Gittertyp weiter erschweren.

[4]) O. Schwarzkopf, Z. Elektrochem. **38**, 353 (1932).

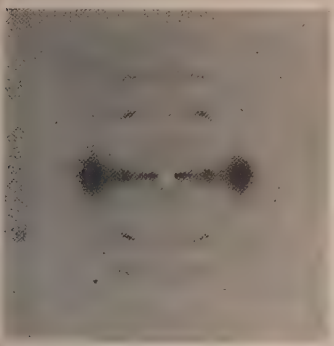


Fig. 1. Sedura.

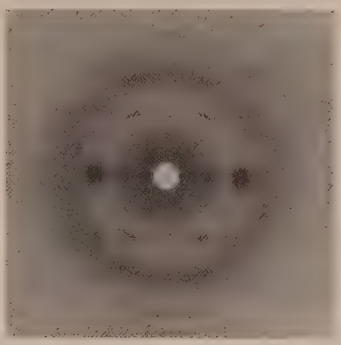


Fig. 2. Ramie-Hydrat.

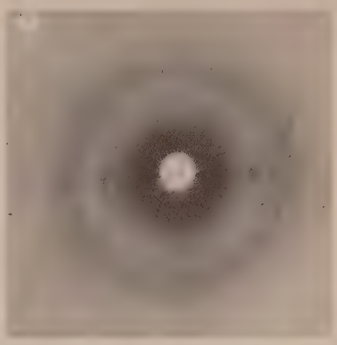


Fig. 3. Sedura in 8 Proz. NaOH.

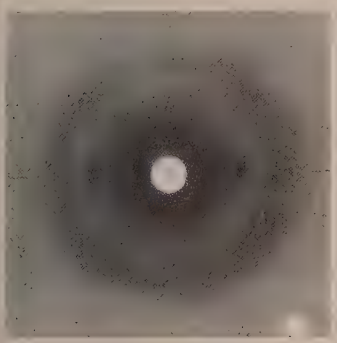


Fig. 4. Sedura in 9,5 Proz. NaOH.

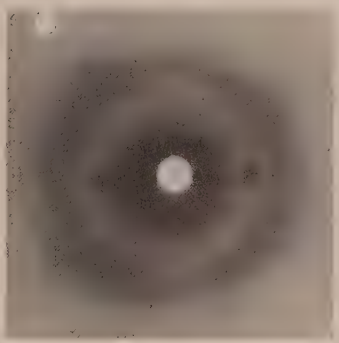


Fig. 5. Sedura in 11 Proz. NaOH.

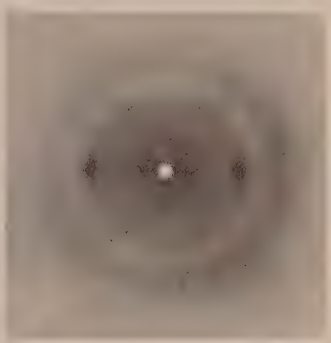


Fig. 6. Sedura in 18 Proz. NaOH.

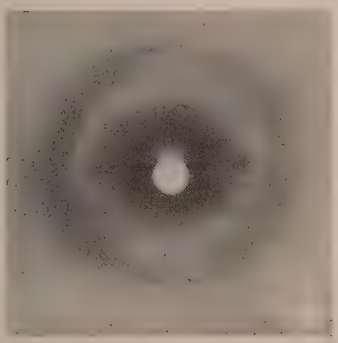


Fig. 7. Sedura in 26 Proz. NaOH.

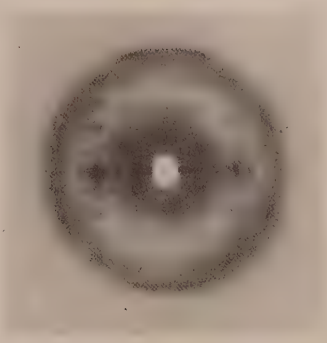


Fig. 8. Sedura wie Fig. 7 in 10 Proz. NaOH verbracht.

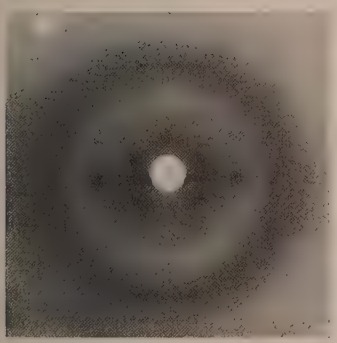


Fig. 9. Sedura in 50 Proz. NaOH bei 100° C, nachbehandelt mit 25 Proz. NaOH bei gewöhnlicher Temperatur.

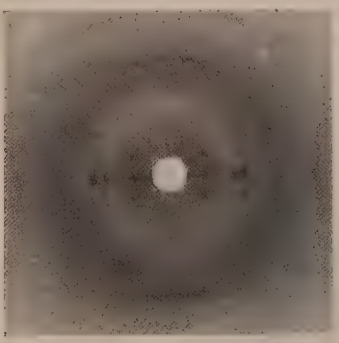


Fig. 10. Präparat der Fig. 9 in 3 Proz. NaOH verbracht.

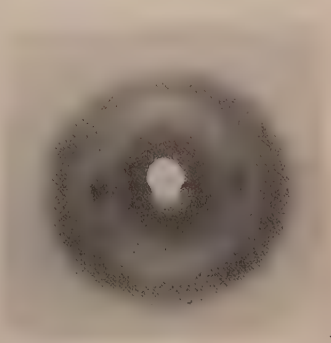


Fig. 11. Präparat der Fig. 9 allmählich in verdünntere Laugen gebracht, aufgenommen bei 3 Proz. NaOH.

Es erhebt sich dabei die Frage, ob wir es hier, ähnlich wie bei den Naturfasern, mit einem Nebeneinanderauftreten von verschiedenen Gittertypen in Abhängigkeit von der Gleichgewichtskonzentration des Reaktionsmechanismus zu tun haben. Eine Analogie mit der Umwandlung der natürlichen Zellulose durch Laugen steigender Konzentration zwischen 8 und 15 Proz. Ätznatron ist schon dadurch nicht gegeben, daß das Gebiet des möglichen Nebeneinanderauftretens von 2 Diagrammen außerordentlich eng begrenzt ist, und daß andererseits durch die bei künstlich hergestellten Zellulosefasern (Zelluloseregeneratfasern) bekannten starken Quellungsvorgänge die gleichmäßige Durchdringung eines Präparates außerordentlich erschwert wird. Derartige Schwierigkeiten konnten bei natürlichen Fasern dadurch überwunden werden, daß die der Reaktion unterworfenen Fasern völlig spannungslos durchreagiert wurden. Versucht man aber den gleichen Weg bei Zelluloseregeneratfasern, so wird, wie kürzlich berichtet[5]), die Interferenzfähigkeit der Substanz vollständig aufgehoben. Man ist so genötigt, im gespannten Zustand zu arbeiten, wobei man sich darüber klar sein muß, daß nicht alle Fasern gleichmäßig durchreagieren können. Es ist also an die Stelle der für jede einzelne Faser gültigen histologischen Hemmung die präparative Störung getreten, die sich allerdings nur in einem sehr engen Konzentrationsbereich auswirkt. Es ist demnach für alle diejenigen Fasern, die der Lauge frei zugänglich sind, aus den vorliegenden Röntgendiagrammen der Schluß zulässig, daß bereits bei etwa 9 Proz. Ätznatron die Zelluloseregeneratfasern eine vollständige Umwandlung in Na-Cell I erfahren. Hierin wird man noch bestärkt dadurch, daß bei längerem Liegen eines gespannten Präparates in Natronlauge von 9 Proz. das Diagramm weitere Veränderungen erfährt, die nur in der Richtung zu deuten sind, daß die Umsetzung in Natronzellulose bei immer mehr Fasern des Faserbündels erfolgt ist. Auch die spannungslos mit 9 Proz. Ätznatron behandelten Fasern geben beim Wiederaufspannen ein Diagramm, das zwar sehr schwach und unscharf ist, aber mit ziemlicher Sicherheit der Na-Cell I zugeordnet werden kann (Fig. 4 und 5).

Läßt man noch höher konzentrierte Natronlaugen auf die Regeneratfasern einwirken, so werden die beobachteten Interferenzen deutlicher und bereits bei 11 Proz. Ätznatronkonzentration läßt sich eindeutig das alleinige Diagramm der Natronzellulose I feststellen. (Bei natürlichen Fasern ist bei dieser Konzentration nur ein Mischdiagramm aus nativer Zelluose + Na-Cell I bzw. aus Hydratzellulose + Na-Cell I je nach der Ausgangsform der Faser zu erzielen.)

Steigert man noch weiter die Konzentration der reagierenden Natronlauge, so wird das Diagramm der Natronzellulose I immer klarer, um bei etwa 18 Proz. Ätznatron seine größte Deutlichkeit zu erreichen.

War bei diesen Versuchen in dem Gebiete zwischen 8,5 Proz. und 9,5 Proz. Ätznatron eine Entscheidung über den Umwandlungsmechanismus auf Grund vermeßbarer Interferenzen nicht möglich, so scheinen die geschilderten Tatsachen doch auszureichen, um festzustellen, daß echte Mischdiagramme zweier nebeneinander beständiger Zellulosemodifikationen bei keiner der verwendeten Konzentrationen zwischen 1 und 18 Proz. Ätznatron auftreten.

Eine Beobachtung verdient aber in dem Konzentrationsgebiet zwischen 1 und 18 Proz. Ätznatron besondere Beachtung, nämlich der Verlauf der Quellung.

Bei merzerisierten, natürlichen Fasern verläuft der Quellungsvorgang so, daß bei steigender Ätznatronkonzentration eine stetige Zunahme der Quellung bis etwa 18 Proz. NaOH stattfindet. Im Gegensatz hierzu ergibt die röntgenographische Feststellung in Übereinstimmung mit physikalischen und chemischen Untersuchungen, daß bei Zelluloseregeneratfasern in diesem Konzentrationsgebiet das Quellungsmaximum bei 9 bis 10 Proz. Ätznatron liegt.

Dies steht in gewisser Übereinstimmung mit Untersuchungen von K. Heß, der eine zunehmende Löslichkeit der Natronzellulose I in Natronlauge sinkender Konzentration unterhalb 18 Proz. Ätznatron feststellte[6]).

Dieser Unterschied im Quellungsverlauf zwischen natürlichen und künstlichen Zellulosefasern findet eine zwanglose Erklärung, wenn man berücksichtigt, daß bei natürlichen Zellulosefasern in dem Gebiete zwischen 9 und 18 Proz. Ätznatronkonzentration Gemische von umgesetzter und unumgesetzter Zellulose vorliegen, während bei künstlichen Zellulosefasern schon bei etwa 9 Proz. eine vollständige Umwandlung in Natronzellulose stattgefunden hat.

Aber nur dann scheint diese Begründung berechtigt, wenn man der Natronzellulose — im Gegensatz zu H. Mark[7]) — ein höheres Adsorp-

[5]) W. Schramek, Z. physik. Chem., Abt. B **50**, 298 (1941).

[6]) C. Trogus, T. Tomonari und K. Heß, Z. physik. Chem., Abt. B **16**, 317 (1932).

[7]) H. Mark, Physik und Chemie der Zellulose (Berlin 1932), 218.

tionspotential und damit eine höhere Quellbarkeit gegenüber Natronlauge als der unumgesetzten Zellulose zuordnet.

Bestätigt wird diese Annahme durch die schon früher mitgeteilte Tatsache[8]), daß auch Natronzellulose, die aus natürlichen Fasern unter Aufrechterhaltung des Faserverbandes bei etwa 18 Proz. Ätznatronkonzentration der Reaktionslösung gewonnen wurde, dann eine Zunahme der Faserquellung zeigt, wenn sie mit weniger konzentrierten Laugen (zwischen 18 und 9 Proz. NaOH) zusammengebracht wird. Ein Maximum der Quellung wurde für derartige Natronzellulose ebenfalls bei etwa 9 Proz. Ätznatronkonzentration festgestellt.

Das bekannte Quellungsmaximum der Zelluloseregeneratfasern kommt demnach dadurch zustande, daß Hydratzellulose, die hier nicht durch histologische Faserelemente in ihrer Adsorptionsfähigkeit behindert ist, bis etwa 9 Proz. Ätznatronlauge sehr stark quillt ohne löslich zu werden, daß aber die bei 9 Proz. gebildete Natronzellulose I in diesem Gebiet das Maximum der Quellung aufweist, so daß sogar Auflösung des Faserverbandes eintreten kann. Die Quellung der Natronzellulose I fällt dann nach höheren Konzentrationen sehr schnell ab, ist aber bei Zelluloseregeneratfasern immer noch beträchtlich stärker als bei natürlich gewachsenen Fasern.

Dieser Quellungsvorgang der Regeneratfasern ist zwischen 9 und 18 Proz. Ätznatronkonzentration, ebenso wie das Röntgenfaserdiagramm, vollständig reversibel, da auch hier die Natronzellulose I, in Laugen sinkender Konzentration verbracht, in gleicher Weise Zunahme der Quellung sowie Abnahme der Interferenzfähigkeit von 18 bis 9 Proz. Ätznatron aufweist, während umgekehrt bei steigender Konzentration von 9 auf 18 Proz. Ätznatron Abnahme der Quellung und Zunahme der Interferenzfähigkeit beobachtet wurde.

Unterhalb 9 Proz. Ätznatron aber ist auch bei den künstlichen Fasern keine Reversibilität wahrnehmbar, da von etwa 8 bis 1 Proz. Ätznatron wie bei den natürlichen Fasern das Diagramm der Na-Cell IV beobachtet wird, die auch hier nicht aus Hydratzellulose im Aufbau erhalten werden kann, also nur im Abbau aus Natronzellulose I entsteht.

Konnte man aus dem Verlauf der Aufbaureaktion der Natronzellulose bei künstlichen Fasern auf eine Bestätigung des Vorhandenseins einer besonderen histologischen Struktur der anders reagierenden natürlichen Fasern schließen, so kann andererseits aus dem Auftreten der Na-Cell IV sowohl bei künstlichen wie bei natürlichen Fasern gefolgert werden, daß für diese Irreversibilität keinesfalls irgendwelche histologischen Elemente verantwortlich sein können.

[8]) W. Schramek, Kolloid-Beih. **40**, 127 (1934).

2. Der Reaktionsverlauf bei der Einwirkung wässeriger Natronlauge auf künstlich hergestellte Zellulosefasern in dem Konzentrationsgebiet oberhalb 18 Proz. Ätznatron.

In früheren Veröffentlichungen[9]) ist der Reaktionsverlauf der natürlichen Fasern oberhalb 18 Proz. Ätznatron eingehend geschildert. Insbesondere konnte in diesen Veröffentlichungen auf den Unterschied des Reaktionsverlaufes bei natürlichen Fasern gegenüber natürlichen merzerisierten Fasern hingewiesen werden. Es wurde auch bewiesen, daß ganz eindeutig zwei verschiedene Modifikationen der Na-Cell II vorkommen, die jede für sich Existenzberechtigung und einen Stabilitätsbereich hat. Es konnte insbesondere gezeigt werden, daß eine Reihe von Kombinationen von Mischdiagrammen möglich sind, worauf auch K. Heß mehrfach hinwies, daß aber die bei 28 Proz. Ätznatron aus natürlichen Fasern erhaltene kristalline Modifikation nicht eine Mischung zweier verschiedener kristalliner Gebilde ist, sondern daß die normale bei 25° C und 28 Proz. Ätznatron erhaltene Na-Cell II ein einheitliches, kristallines Gebilde darstellt. Es kommen demnach in dem Konzentrationsbereich oberhalb 18 Proz. Ätznatron bei merzerisierten, natürlichen Fasern folgende Modifikationen vor: Na-Cell I, Na-Cell II, Na-Cell V und Na-Cell II h. Es war nun die Frage zu lösen, ob die gleichen Modifikationen bei regenerierter Zellulose vorkommen, und ob ebenso wie bei der merzerisierten, natürlichen Zellulose in drastischer Weise Mischdiagramme erhalten werden. Zwischen 0 und 18 Proz. Ätznatron sind echte Mischdiagramme der Zellulose bei Regeneratfasern an keiner Stelle aufgetreten[10]).

[9]) W. Schramek, W. Schramek und H. Görg, loc. cit.; W. Schramek und O. Succolowsky, Kolloid-Z. **80**, 129 (1937).

[10]) Da auch in diesem Gebiet die Quellung außerordentlich hoch ist, treten hier dieselben Schwierigkeiten auf wie an der Übergangszone zwischen Hydratzellulose und Na-Cell I. Bei sehr kleinen, nicht kontrollierbaren Abwandlungen der Reaktionsbedingungen kann man bei der gleichen Natronlaugenkonzentration auch Diagramme erhalten, die nicht einwandfrei als Na-Cell II zu deuten sind, sondern ganz offensichtlich noch beträchtliche Mengen von Na-Cell I enthalten. Auch spannungsloses Reagieren führt hier nicht zum Ziele, da dann das Diagramm fast vollständig verschwindet.

Bis zu der Konzentration von 24 Proz. NaOH wird bei der Imprägnierung von natürlichen Zellulosefasern das gleiche Diagramm erhalten wie bei natürlichen merzerisierten Fasern. D. h. es tritt in diesem Gebiet nur die Na-Cell I auf. Von 24 Proz. Ätznatron aufwärts wird jedoch bei regenerierten Zellulosefasern nicht das Diagramm der Na-Cell V beobachtet, sondern es tritt ausschließlich das Diagramm der Na-Cell II auf. Das Diagramm ist allerdings unscharf, und eine eindeutige Vermessung nicht möglich. Indessen ergibt der Vergleich mit dem Diagramm der Na-Cell V und dem reinen Diagramm der Na-Cell II ziemlich einwandfrei, daß es sich hierbei nur um das Diagramm der Na-Cell II handeln kann[11]). Wir haben in einer früheren Arbeit zeigen können, daß die Na-Cell V lediglich eine Übergangsform der Hydratzellulose bei ihrer Umwandlung in Na-Cell II unter gewissen Bedingungen darstellt. Eine Erklärung für diesen Vorgang wurde nicht gegeben. Indessen folgt aus der Tatsache, daß den Regeneratzellulosefasern der komplizierte histologische Aufbau natürlicher Fasern fehlt, daß gewisse innere Hemmungen weggefallen sind, welche die Ausbildung einer Zwischenstufe, wie sie die Na-Cell V darzustellen scheint, vielleicht erst ermöglichen konnten. Die regenerierte Hydratzellulose, die über ein wesentlich kürzeres Molekül verfügt, die außerdem keinerlei Vernetzungen und Organisation zwischen den einzelnen kristallinen Bereichen kennt, reagiert demnach unmittelbar auch in den Konzentrationen zwischen 26 und 28 Proz. NaOH zur Umwandlung in Na-Cell II. Bis zu einer Konzentration von 28 Proz. kann auf diese Weise ein deutliches Diagramm der Na-Cell II durch direkte Einwirkung von Ätznatronlauge erhalten werden. Die Diagramme werden aber bei Anwendung höherer Konzentrationen immer unschärfer, um schließlich ganz zu verschwinden. Eine Beobachtung, die in ähnlicher Weise auch bei natürlichen Hydratzellulosefasern gemacht werden konnte.

3. Die Frage der Reversibilität der Gitterumwandlung bei regenerierten Zellulosefasern.

Verbringt man eine durch 27 Proz. in Na-Cell II übergeführte Regeneratzellulosefaser in Laugen sinkender Konzentration, so wird auch hier bis zu einer Konzentration von 10 Proz. NaOH bei längerer Einwirkung der verdünnten Lauge die Na-Cell II nicht in die Na-Cell I umgewandelt, sondern das ursprünglich nicht sehr scharfe Diagramm der Na-Cell II wird dann erheblich schärfer und klarer, ohne jedoch die Schärfe derjenigen Diagramme zu erreichen, die bei 50stündiger Einwirkung von 10proz. Natronlauge auf Naturfasern, die in 27 Proz. Ätznatron umgewandelt wurden, erhalten werden konnten[12]).

Unterhalb 10 Proz. Ätznatron bleibt bei vorsichtiger Reaktionsweise das Diagramm der Na-Cell II ebenso wie bei natürlichen Fasern erhalten. Es scheint sich aber auch bei etwa 8 Proz. NaOH in die Modifikation Na-Cell II h umzuwandeln, die dann herunter bis zu den bei natürlichen Fasern beobachteten Konzentrationen stabil ist und nicht in die Na-Cell IV überzugehen vermag.

Auch die Bildung der einen Natronzellulosemodifikation, wie sie K. Heß in hochkonzentrierten Natronlaugen bei 100° C erhalten hatte, tritt bei Regeneratzellulosefasern ein und es konnte festgestellt werden, daß diese von uns mit Na-Cell II h bezeichnete Modifikation die gleichen Reaktionseigenschaften zeigt wie bei natürlichen Zellulosefasern (Fig. 9—11).

* * *

Hieraus ergibt sich abschließend: die Reaktionen der Natronzellulose verlaufen bei regenerierten Zellulosefasern eindeutig im Sinne des heterogenen Reaktionstypes. Echte Mischdiagramme, wie sie über größere Konzentrationsbereiche bei natürlichen Fasern beobachtet werden, treten nicht auf. In der Natur der Regeneratzellulosefasern scheint es begründet zu sein, daß die Beobachtung scharfer Reaktionsgrenzen erschwert ist. In der Verkleinerung des Zellulosemoleküls und damit der kristallinen Zelluloseaggregate scheint es zu liegen, daß Zwischenformen, wie z. B. die Na-Cell V entweder überhaupt nicht auftreten oder experimentell außerordentlich schwer zu fassen sind. Dies trifft auch zu für das Umwandlungsgebiet der Na-Cell II zwischen 10 Proz. Ätznatron abwärts bis zu 2 Proz. Ätznatron. In diesem Gebiet sind bei verschieden gelenkter Reaktion zwei verschiedene Umwandlungen möglich, die sich allem Anschein nach bei den kleinen Aggregaten der Regeneratzellulosefasern schwer voneinander trennen lassen.

[11]) W. Schramek und Görg, loc. cit.

[12]) W. Schramek und Görg, loc. cit., Tafel IV.

Bemerkung zur Diskussion über die Elektronenmikroskopie der Zellulosefaser.

Von A. Frey-Wyssling (Zürich). (Eingegangen am 6. Mai 1942)

In seinem interessanten Referat über die Ergebnisse der Übermikroskopie von Zellulosefasern, die in der Kugelmühle zertrümmert worden sind, gibt W. Wergin [Kolloid-Z. **98**, 131 (1942); Kehlheim-Heft] ein Schema von mir wieder „für die Anordnung geordneter Gitterbereiche in der Zellwand". Jenes Schema stammt aus meiner Submikroskopischen Morphologie[1]), und zwar aus dem Kapitel über den allgemeinen Aufbau der Gele; es darf daher nicht auf den speziellen Feinbau der Zellulosefaser übertragen werden, um es dann wegen der geringen Ordnung der Molekülketten der Kritik zu unterziehen. Jenes aufgelockerte Gelmodell mit recht geringer Packung der Kettenmoleküle ist von mir nie als Schema des submikroskopischen Faserbaues verwendet worden.

Dagegen habe ich seit meinen Untersuchungen über die intermizellaren Räume in Pflanzenfasern folgendes Schema vom submikroskopischen Faserquerschnitt aufgestellt[2]) und an zahlreichen Stellen veröffentlicht[3]) (Fig. 1). Wiederholt habe ich

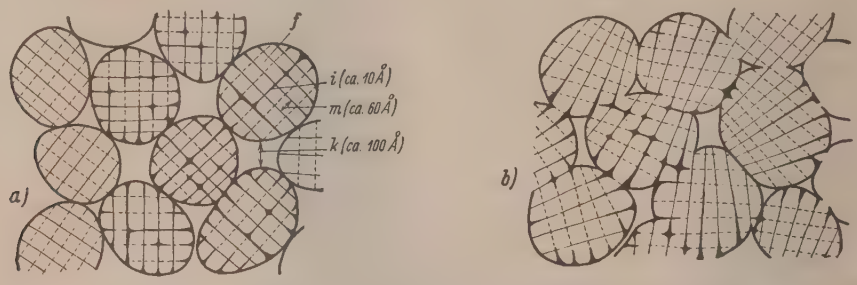


Fig. 1 [samt Legende reproduziert aus Protoplasma **27**, 402 (1937)].
Schematischer Querschnitt durch den submikroskopischen Faserbau. f = submikroskopische Mikrofibrillen durch intermizellare Räume i zerklüftet. m = Schematischer Umriß der ungestörten Gitterbereiche (Mizelle) durch zwei Hauptrichtungen im Zellulosegitter — — und - - - -, auf eine Ebene projiziert. k = submikroskopische Kapillaren. *a)* Die Mikrofibrillen sind vollständig individualisiert. *b)* Der Gitteraufbau der Mikrofibrillen geht gleitend in denjenigen der Nachbarfibrillen über.

mich dagegen gewandt, daß die mikroskopischen Fibrillen (W. Wergin nennt sie jetzt „Fibrillenbündel") Elementarbausteine der Zellwand vorstellen, da sie weiter spaltbar seien[4]). Ich habe daher im vorliegenden Schema submikroskopische Fibrillen dargestellt und sie als Mikrofibrillen[2]) bezeichnet (W. Wergin nennt sie jetzt „Grundfibrillen"). Zufälligerweise besitzen meine indirekt erschlossenen Mikrofibrillen auf dem Schema sogar den gleichen Durchmesser von 300—500 Å, wie er nun durch die Elektronenmikroskopie gefunden worden ist! Es besteht für mich kein Zweifel, daß die in Fig. 3 des Referates abgebildeten Grundfibrillen wiederum keine „Elementareinheiten" vorstellen. Dagegen spricht schon ihre von 100 bis 750 Å schwankende Dicke. Sie müssen vielmehr noch weiter zu den von mir als Mizellarstränge bezeichneten Molekülfadenbündeln spaltbar sein, bis man endlich zu der röntgenometrisch erfaßbaren Dicke der ungestörten Gitterbereiche kommt. Wenn die Grundfibrillen ein einheitliches, homogenes Kristallgitter besitzen würden, müßte ihre Biegsamkeit, ähnlich wie bei Asbestfibrillen, sehr gering sein.

Wie aus dem abgebildeten Schema hervorgeht, besteht zwischen meinen Ansichten über den Faserzellwandaufbau und den Ergebnissen der Elektronenmikroskopie keineswegs ein prinzipieller Unterschied, wie man aus den Ausführungen von Herrn Kollegen Wergin schließen könnte. Im Gegenteil ist eine vollkommene Übereinstimmung vorhanden.

Meinungsunterschiede bestehen nur im Werte, den man den morphologischen „Einheiten" zubilligen will. Herr Wergin hat den Begriff des

[1]) Berlin 1938, S. 79.
[2]) Protoplasma **27**, 402 (1937).
[3]) Kolloid-Z. **85**, 152 (1938); A. Frey-Wyssling, Submikroskopische Morphologie (Berlin 1938), S. 107; Sci. Progr. **34**, 258 (1939).
[4]) Protoplasma **25**, 290 (1936); Naturwiss. **28**, 386 (1940).

„Schachtelsystemes" geprägt, nach welchem die Grundfibrillen als vollkommen individualisierte Einheiten in die Fibrillenbündel hineingepackt, und die Fibrillenbündel allseitig von einem zellulosefremden Kittstoff umgeben in die Zellwandschichten eingemauert seien. Dieser Auffassung steht die Tatsache entgegen, daß weder von den Grundfibrillen, noch von den Fibrillenbündeln die Länge bestimmt werden kann, und daß Bailey und seine Mitarbeiter[5]) die Anastomosierung der Fibrillenbündel in der Längserstreckung der Faser abgebildet haben! Wenn bei der nächst höheren Stufe des Schachtelsystemes, nämlich bei den Faserzellen, die gefundenen Bausteine nach Breite und Länge wohl definiert sind, warum ist dann bei den kleineren Schachteleinheiten die Teilchengrößenbestimmung nur in der Querrichtung möglich? Es mag zutreffen, daß die Oberflächenbeschaffenheit der Fibrillenbündel besser individualisiert ist, als ich ursprünglich anzunehmen geneigt war. Aber die Gegenwart einer „Fremdhaut" ist damit keineswegs bewiesen. Warum sieht man die „Haut" des Fibrillenbündels in Fig. 5 des Referates, in Fig. 3 dagegen nicht? Ferner zeigt Fig. 5 andeutungsweise eine Segmentierung eines Fibrillenbündels, wovon in Fig. 3 keine Spur zu bemerken ist, während umgekehrt die wunderbaren Grundfibrillen von Fig. 3 in Fig. 5 nicht vorhanden sind. Dies weist doch wohl darauf hin, daß bei der Elektronenmikroskopie ebenso wie bei der Lichtmikroskopie die „Elementarbausteine" je nach der Behandlungsart, der man die Fasern unterzieht, erscheinen oder nicht. Wo sind die vielbesprochenen „Querhäute", die den Ausgangspunkt für die Fremdhauttheorie gebildet haben, und gegen deren Existenz ich mich immer wieder wenden mußte[6])? Warum brechen die Grundfibrillen in Fig. 3 auf ganz verschiedener Höhe ab, wo doch das Fibrillenbündel segmentiert sein soll? Wenn der zellulosefremden Kittsubstanz so außerordentliche „verleimende" Fähigkeiten zukämen, wie sie Herr Kollege Heß auf Seite 140 zur Diskussion stellt, dann dürfte die Querfestigkeit der Fasern nicht so viel kleiner als die Zugfestigkeit ausfallen.

Ich stimme mit Herrn Wergin vollkommen überein, daß es für die Aufstellung eines vollständigen Aufbauschemas der Faserwand noch verfrüht ist; deshalb wurden auch seiner Zeit im Schema von Fig. 1 zwei verschiedene Möglichkeiten offen gelassen. Es ist jedoch gut, wenn jeder Forscher versucht, seine Meinung durch ein Schema zum Ausdruck zu bringen, damit klar ersichtlich ist, wie er seine Untersuchungsergebnisse im makromolekularen Gebiete deutet. Freilich dürfen solche Schematas dann nicht mit willkürlichen Unterschriften reproduziert und wie im vorliegenden Falle mit übermikroskopischen Bildern verglichen werden, deren Maßstab sich ein bis zwei Größenordnungen vom Maßstabe des Schemas unterscheidet.

[5]) J. Arnold Arboretum **16**, 273 (1935), Tafel 144, Fig. 12.

[6]) Planta (Berlin) **25**, 788 (1936); Papierfabrikant **36**, 212 (1938).

Referate.

III. Kolloidforschung.

Holzmüller, W.-Berlin-Dahlem, KWI. f. Phys. Chemie u. Elektro-Chemie, **Dielektrische Verluste hochpolymerer Festkörper.** (Physik. Z. **42**, 281, 1941.)

Verf. bestimmt die dielektrischen Verluste bei Frequenzen zwischen 500 und einigen 10^6 bei Temperaturen von 30 bis 160° C für eine Reihe von durchweg glasigen hochpolymeren Substanzen. Es zeigt sich für hohe Frequenzen das erwartete Maximum im Bereiche mittlerer Temperaturen, wobei nach niedrigen und höheren Temperaturen die Verlustwinkel wieder abfallen. Die Temperaturabhängigkeit kommt in bekannter Weise zustande durch die steigende Erweichung bzw. Temperaturbewegung, wobei die Relaxationszeiten in charakteristischer Weise mit zunehmender Temperatur abnehmen. Bei hohen Temperaturen und niedrigen Frequenzen kann ein weiterer Anstieg der dielektrischen Verluste beobachtet werden, der als auftretende Ionenleitfähigkeit gedeutet wird.

K. Hoffm.

Wischert, W.-Frankfurt a. M., **Über das Kalziumoxyd und sein Hydrat.** (Dissertation, Frankfurt a. M. 1941.)

Annahme, daß das Wasser von den $< 0{,}1\,\mu$ großen CaO-Teilchen adsorptiv gebunden wird. Die Dicke dieser adsorbierten Schicht wird auf 13,7 Å berechnet, was einer 6fachen Lage von Wassermolekülen entsprechen würde.

R. E. Lg.

Speich, H.-Locarno, **Die Quellung und Doppelbrechung der Kartoffelstärkekörner.** (Verh. schweiz. naturf. Ges. Locarno **1940**, 166.)

Über Phosphorpentoxyd getrocknete Kartoffelstärke zeigt bei 25° C in Wasser 19 Proz. Volumvermehrung, in Glyzerin 17,8, in Glykol 22, in absolutem Äthylalkohol 6, in einer Mischung von 75 Proz. Wasser und 25 Proz. Alkohol 18 Proz. Lyophile Flüssigkeiten dringen in diese Stärke nicht ein und verändern deshalb nicht die Doppelbrechung.

R. E. Lg.

IV. Methoden, Apparate und Analyse.

Zimmermann, W., **Anstaltsapotheker als Forscher und Wissenschaftler.** (Die Krankenhaus-Apotheke **15**, Nr. 3, 1942.)

Es wird daran erinnert, daß E Ritsers, der spätere Synthetiker des Anästhesins (1888), „eine neue Einbettungsmasse für anatomische Präparate" geschaffen hat, die ähnlich einer Hektographenmasse aus einer Mischung von Gelatine und Glyzerin mit einem kleinen Zusatz von Phenol bestand. R. E. Lg.

Tiselius, A.-Upsala, **Ein neues Verfahren für die Adsorptionsanalyse.** (Science **94**, 145, 1941.)

Ein kurzes chromatographisches Rohr wird oben durch eine optische Küvette abgeschlossen. Die zu analysierende Flüssigkeit durchströmt die Adsorptionsschicht von unten nach oben. Man kann dann nach der Schlierenmethode Konzentrationsänderungen der Flüssigkeit in der Küvette messend verfolgen. So wie bei Anwendung des Schlierenverfahrens bei der Elektrophorese bilden sich auch hier Grenzen aus, deren Zahl derjenigen der adsorbierbaren Bestandteile entspricht. Der Flüssigkeitsinhalt zwischen jeder Grenze und dem Meniskus, das „Verzögerungsvolumen", ist gleich dem Verhältnis zwischen der adsorbierten Menge und der Konzentration des betreffenden Bestandteiles. Dieses Verfahren bietet der qualitativen und quantitativen Analyse große neue Möglichkeiten, da sie sich im Gegensatz zur eigentlichen chromatographischen Adsorptionsanalyse auch ohne weiteres auf ungefärbte Substanzen anwenden läßt. Pr.

Auerbach, R.-Berlin, **Kavitation als Verfahrenstechnik.** (Chem. Technik **15**, 107, 1942.)

Das Phänomen der Kavitation wurde an Schiffsschrauben zuerst beobachtet und von Reynolds durch folgenden Versuch erklärt: „Er ließ Wasser durch ein Glasrohr strömen, dessen Querschnitt an einer Stelle venturiartig verengt ist. An dieser Stelle entsteht durch die Strömung ein Unterdruck. Steigert man nun die Strömungsgeschwindigkeit des Wassers und damit den kinetischen Unterdruck soweit, bis mindestens der Dampfdruck des Wassers erreicht wird, so treten Hohlräume von dampfförmigem in flüssigem Wasser auf. Dieses System bleibt so lange stationär, wie die entsprechenden Druckbedingungen örtlich bzw. zeitlich anhalten. In einiger Entfernung von dem Entstehungsort der Kavitation bricht das System schlagartig unter Rückbildung der homogenen flüssigen Phase zusammen."

Gasblasen wirken bei der Hohlraumbildung als Keime. Gelöste oder disperse Gase unterstützen den Kavitationseffekt, der auch ohne ihr Vorhandensein eintritt, und lassen ihn bei geringeren Strömungsunterdrucken auftreten. Zusatz von Emulgiermitteln, am besten Cyclanon L, ermöglicht die Verwendung der Kavitation zur Herstellung von Öl-in-Wasser-Emulsionen. Die grundsätzlichen Einrichtungen zur Erzeugung der Kavitation werden dargestellt: das Venturi-Ventil und der Rührer. Führt man Gase unter Druck zu, so gelingt es mittels Kavitation, Gase molekular und als dauerhafte Suspension zu lösen. Durch eine andere Form der Schaltung kann man aber auch Entgasungen durch Kavitation durchführen. In gleichem Sinne hat man schon Versuche mit Ultraschall ausgeführt. Im Knoten stehender Wellen bei Ultraschallversuchen kann der Druck „bis auf den Dampfdruck der Flüssigkeit fallen und dadurch Kavitation verursachen. Umgekehrt stellt jede Kavitationsanordnung einen Schallsender hoher Frequenzen und mehr oder weniger großer Intensität dar." Pr.

V. Kosmische Physik, Mineralogie und Agrikulturchemie.

Dehlinger, U., **Gleichgewicht und Keimbildung beim Schmelzen und Erstarren.** (Physik. Z. **42**, 197, 1941.)

Für das thermodynamisch bedingte und durch die Spannungen von der Umgebung beeinflußte Wachstum einer statistischen Schwankung wird eine Differentialgleichung aufgestellt und damit die Bildung von Keimen in der unterkühlten Schmelze beschrieben. Es ergibt sich qualitativ eine mit der Erfahrung übereinstimmende Temperaturabhängigkeit. Demnach ist ein Keim in der Schmelze eine wachstumsfähige Schwankung in der Verteilung der Fehlordnung. Eine andere Differentialgleichung gilt für das Kristallwachstum. Im Gegensatz zur kristallisierenden Schmelze wird im Inneren eines schmelzenden Kristalles eine Keimbildung durch die dort wesentlich höheren Spannungen verhindert. (Teil der Übersicht des Verfassers.) K. Hoffm.

Taylor, N.W., und Ch.Y. Lin, **Wirkung von verschiedenen Katalysatoren auf die Umwandlung von Quarz in Cristobalit und Tridymit.** (J. Amer. ceram. Soc. **24**, 57, 1941.)

Hochgereinigter Quarzsand, gemischt mit 0,1 bis 2 Proz. der zu prüfenden Fremdstoffe und etwas Dextrinlösung als Bindemittel wird zu kleinen Zylindern gepreßt und diese nach dem Trocknen auf 1000 bis 1500° elektrisch erhitzt. Die Schätzung des Umwandlungsgrades erfolgt durch Bestimmung der Dichteabnahme.

Karbonate, Chloride, Fluoride der Alkalien fördern die Umwandlung am stärksten. Es wird vermutet, daß dieses auf der stärkeren Dissoziation der Alkalisilikate in der Hitze beruht. Beziehung zur Sinterung besteht nicht. Denn zuweilen sind locker gebliebene Pulver weiter umgewandelt. TiO_2, C und P_2O_5 hemmen die Umwandlung. R. E. Lg.

Jensen, Chr.-Hamburg, **Die Schwankungen der atmosphärischen Lichtdurchlässigkeit.** (Scientia **36**, 108, 1942.)

Es ist zu unterscheiden: a) Lichtabsorption durch verschiedene Gase (z. B. CO_2) und Wasserdampf, b) Trübung durch luftfremde Teilchen, c) Inhomogenitäten der Luft an sich (Schlieren usw.). Schon 1873 unterschieden Hagenbach und Tyndall b und c. Durch Verwendung eines Nicol-Prismas beseitigten sie das störende polarisierte Licht bei c, während b dabei unverändert bleibt. — Der Krakataua-Ausbruch (1883) förderte 18 km³ Verunreinigungen in die Luft, der Tambora-Ausbruch (1815) sogar 150 km³. Viel kommt von den innerafrikanischen Wald- und Grasbränden, die Flächen von hunderten Quadratmeilen ergreifen können. — Der außerterrestriale Staub stammt nicht allein aus dem beim Zerfall von Kometenköpfen entstehenden Sternschnuppen. — Für die Atmosphäre-Trübungen ist natürlich auch die Anlagerung von Wasser oder Eis an die verschiedenen Kerne von großer Bedeutung. R. E. Lg.

Vormer, J. J., **Herstellung von Quarzkristallen für technische Zwecke.** (Ned. Tyds. Natuurk 8, 289, 1941.)

In dieser Arbeit werden die Quarzkristalle, die in elektrischen Filtern und in Schaltern verwendet werden, besprochen.

Die höchsten Ansprüche stellt man den Generatorkristallen für Frequenzstandardzwecke. Man wünscht dann, abgesehen von Nebenfrequenzen:

1. daß die Eigenfrequenz temperaturunabhängig ist,
2. daß sie vom Luftdruck unabhängig ist,
3. daß die Dämpfung klein ist,
4. daß die Größen des elektrischen Ersatzschemas besonderen Anforderungen genügen,
5. daß die Eigenfrequenz sehr genau eine bestimmte Größe hat.

Die Entwicklung von temperaturunabhängigen Schnitten wird im Zusammenhang mit dem ersten Anspruch besprochen, besonders wird der sogenannte GT-Schnitt, wobei die Frequenz über ein ausgedehntes Temperaturgebiet temperaturunabhängig ist, behandelt.

Die unter 2. und 3. genannten Ansprüche veranlassen die Konstruktion eines speziellen Halters, wobei der Kristall im Vakuum aufgestellt ist.

Dem 4. Anspruch wird durch eine richtige Wahl der Abmessungen im Zusammenhang mit dem erwähnten Schnitte entgegengekommen.

Die 5. Bedingung verursacht große Schwierigkeiten und wenn man hohe Ansprüche stellt, soll die letzte Frequenzkorrektion elektrisch durchgeführt werden.

Abschließend wird etwas über die Prüfung von Quarz, über die Richtungsbestimmung der Kristallachsen durch Verwendung von Ätzfiguren und über die Verarbeitung von Quarz mitgeteilt.

R. Houwink.

VI. Biochemie und Medizin.

Brauner, L., und M.-Istanbul, **Weitere Untersuchungen des Lichteinflusses auf Wassereintritt und -ausscheidung lebender Pflanzenzellen.** (New Phytol. **39**, 104, 1940.)

Die Gewichtsunterschiede belichteten Wurzelgewebes von Daucus durch osmotische Wasseraufnahme sollen darauf beruhen, daß die ursprünglich negative Membran durch Elektronenabspaltung an Ladung verliert, die Membranporen enger werden, somit die Permeabilität für große Anionen sinkt und dadurch wegen der großen Anionen des Zellinnern die elektroosmotische Kraft steigt, d. h. aus dest. Wasser, in dem die elektroosmotische Kraft der osmotischen gleichgerichtet ist, Belichtung die Wasseraufnahme vermehrt. Durch Elektrolyte im Medium muß dann eine Verminderung oder eine Umkehrung des Membranpotentials und dadurch auch der Osmose bedingt werden. Verwickelt, aber wohl einleuchtend, werden die Verhältnisse, wenn etwa durch n/10 KCl deswegen die Wasseraufnahme stark herabgesetzt, die Lichtwirkung aber wegen der doppelten Umkehrung fast normal (nur wenig abgeschwächt) bleibt. Auch die andern Versuche mit n/50 Natriumphosphatpuffern fügen sich den Deutungen ein.

—r.

Brauner, L., M. und M. Hasman-Istanbul, **Die Beziehungen zwischen Wassereintritt und Oxybiosen in lebenden Pflanzengeweben.** (Rev. Fac. sc. Univ. Istanbul, B, **5**, 266, 1940.)

In durchlüftetem dest. Wasser nimmt das Gewicht von Kartoffelknollengewebe anfangs logarithmisch, nach 1 Tag lange Zeit linear zu, unter anaeroben Bedingungen hört nach spätestens 1 Tag die Wasseraufnahme ganz auf und tritt unter fortschreitendem Zerfall der Gewebe Gewichtsverlust ein. Die Saugkraft nimmt aerob von anfangs 5,8 at in 2 Tagen bis auf 1,8 at ab und bleibt dann unter aeroben Bedingungen trotz Wasseraufnahme unverändert. (Die scheinbare Abnahme der Wasserpermeabilität könnte daher rühren, daß anfangs vornehmlich die äußeren, später erst innere Zellen Wasser aufnehmen; der Wert von 170 μ/h.at für die Permeabilität von der Zellwand zur Vakuole ist trotz der Höhe in guter Übereinstimmung mit bekannten Befunden an gleichem Gewebe.) Unter aeroben Verhältnissen verdoppelt sich die Glukose in 3 Tagen und nimmt die Saccharose um 14 Proz. ab, unter anaeroben sinkt jene um 55, letztere um 71 Proz.; der Gesamtzucker steigt in dieser Zeit von 0,595 auf 0,972 at unter aeroben Bedingungen, sinkt aber anaerob infolge starker Zunahme der Zuckerpermeabilität auf 0,248 at. Immer wird die Permeabilität von Saccharose höher als von Glukose gefunden und dieser unwahrscheinliche Befund mit extrazellulärer Bildung jener aus letzterer erklärt. Der schon zu Beginn der Versuche auftretende Unterschied scheint in zunehmender Wanddehnbarkeit oder in einem elektroosmotischen Effekt begründet zu sein.

—r.

Buchthal, F.-Kopenhagen, **Versuche über Feinstruktur und Funktion der quergestreiften Muskelfaser.** (Acta Psychiatr. et Neurol. **15**, 43, 1940.)

In dieser Zusammenfassung aus Untersuchungen des Doppelbrechungs- (Buchthal, Knappeis und J. Lindhard, Skand. Arch. Physiol. **73**, 163, 1936), Absorptions- (Buchthal, Knappeis und T. Sjöstrand, ibid. **82**, 225, 1939) und Beugungsverhaltens (Buchthal und Knappeis, ibid. **83**, 281, 1940) wird gefolgert, daß die Ausbildung der Mizelle des ruhenden Muskels die Resultante elastischer und elektrischer Kräfte darstellt und die Kontraktion primär auf einer Verkürzung der ursprünglichen Länge orientierter Mizelle beruht, während mechanische Phänomene (Spannung, Arbeitsleistung) sekundäre Prozesse sind. Die Veränderung der Ausgangslänge der Mizelle liegt in der anisotropen Substanz begründet, welche zugleich Sitz des niedrigsten Elastizitätsmoduls ist, dessen Veränderungen allerdings hauptsächlich in isotropen Teilen lokalisiert sind. Veränderungen des elektrischen Feldes der Mizelle werden als Verbindung zwischen den metabolischen Prozessen der Faser und ihren mechanischen Veränderungen beschrieben. So soll die vollkommene leptonische Analyse die Lücke zwischen röntgenoptischen Befunden molekularer Größenordnung und mikroskopischen Untersuchungsergebnissen durch Messungen von Doppelbrechung, Dispersion, Beugung und Absorption des Lichtes durch das Objekt schließen.

—r.

Buchthal, Fr., und G. G. Knappeis-Kopenhagen, **Beugungsspektra und Feinstruktur der quergestreiften Muskelfaser.** (Skand. Arch. Physiol. **93**, 281, 1940.)

Die Schärfe der Beugungsbilder auch beim Ge-

samtmuskel beweist die koordinierte Anordnung anisotroper und isotroper Materie zwischen benachbarten Fasern. Eingehend untersucht werden Beugungsbilder der Einzelfaser in Ruhe, bei Dehnung und Kontraktion mittels weißen, monochromatischen und polarisierten Lichtes (zugleich quantitative Angaben!); geschlossen wird, daß eine spiralige Anordnung der Querstreifung in der lebenden Faser nicht vorkommt. Die im wesentlichen übereinstimmenden Einflüsse der Dehnung und der Kontraktion auf die photometrierten Beugungsbilder werden damit erklärt, daß die Mizellbündel der ruhenden Faser noch nicht völlig parallelisiert sind, sondern in beiden Fällen eine Verbesserung der Orientierung erfahren. —r.

Schopfer, W. H.-Eaux-Vives/Schweiz, **Zellphysiologische Untersuchungen über das Wachstumsvitamin B (Laktoflavin) und seine Derivate Lumiflavin und Lumichrom.** (C. r. Soc. phys. et nat. hist. Genev. **58**, 130, 1941.)

Das Laktoflavin und das durch Photolyse im Alkalischen daraus entstehende Lumiflavin fluoreszieren stark gelbgrün, das im sauren gebildete Lumichrom blau. Bei Färbung von Allium-Epidermen mit Laktoflavin im Dunkeln fluoreszieren die Zellwände [die Färbung ist aber wohl weniger Imbibition als, sofern sich das mit Lösungen abgestufter C_H nachweisen läßt, Elektroadsorption], nach mehrtägiger Einwirkung auch die Vakuole (in der bei Belichten photolytisch Lumichrom entsteht). Lumiflavin verhält sich im ganzen ähnlich, während Lumichrom vom Plasma gespeichert wird, selten von Wänden oder Vakuolen. [Permeabilität und Intrabilität hat Verf. leider mehrfach vertauscht. Zu gesicherten Schlüssen reichen die Versuche wegen ungenügender Berücksichtigung der zu erwartenden C_H-Abhängigkeit meist nicht aus.] —r.

Monné, L.-Stockholm, **Polarisationsoptische Analyse des Zytoplasmas der Spermatozyten von Lithobius forficatus L.** (Ark. Zool., B, No. 1, S. 1, 1942.)

Die durch hypertonische Lösungen abgehobene Membran und die Plasmaoberfläche sind negativ doppelbrechend zum Radius, das diffus aufleuchtende Innere positiv zur Länge; die Oberfläche besteht wohl aus Eiweißfolien, das Innere aus solchen und damit abwechselnden Lipoidlamellen. Das Grundplasma außerhalb der Mitochondrien ist negativ zum Radius. Entquollene Objekte zeigen (wie nach Chrysoidinfärbung oder Behandlung mit hypertonischen Medien auch Nervenzellen und Spermatozyten von Helix, Spermatozyten von Cepea und Geophilus oder unbefruchtete Eizellen von Psammechinus) positive Sphäritstruktur. Gestreckte Spermatozyten von Lithobius sind positiv zur Länge, schwach gefärbte kleinere bilden negative Sphärite. Auch der Golgiapparat, besonders bei schwacher Hypertonie, ist doppelbrechend wie Spindel, Astrosphäre und Nukleolus. —r.

Hevesy, G., und N. Nielsen-Kopenhagen **Kalium-Austausch in Hefezellen.** (Acta Physiol. Skand. **2**, 347, 1941.)

Der bei Verwendung von radioaktivem K bestimmte Austausch zwischen Zellen und Nährlösung ist nur bei starker Gärung vollkommen; doch soll durch letztere nicht so sehr die Permeabilität verändert, sondern infolge vermehrten Ab- und Wiederaufbaues von K-Verbindungen ungebundenes K in größerer Menge verfügbar sein. —r.

VII. Technische Kolloidforschung.

b) Metallurgie.

Ruthardt, K.-Hanau, **Zur Technik der Platinmetalle.** (Chem. Technik **15**, 117, 1942.)

Platin ist technisch wertvoll vor allem infolge seiner Reaktionsträgheit. Sie geht Hand in Hand mit einem hohen Schmelzpunkt. Zum Sauerstoff besteht eine starke Oberflächenbindung, ohne welche die Wirkung des Platins als Oxydationskatalysator unverständlich wäre. Setzt man dünne Platinschichten bei steigender Temperatur der Sauerstoffeinwirkung aus, so zeigt sich erst eine geringe Abnahme und dann ein sprunghaftes Ansteigen des elektrischen Widerstandes ohne Zerstörung der Metallschicht. Die Gasbehandlung bedingt vielmehr eine chemische Umwandlung, die sich durch Beobachtung des optischen Reflexionsvermögens verfolgen läßt. — Von den Anwendungsmöglichkeiten der verschiedenen Platinmetalle ist erwähnenswert, daß Ag mit 17—30 Proz. Pd anlaufbeständig ist. Pt mit 8,5 Proz. Ni läßt den unerwünschten Materialtransport bei elektrischen Schwachströmen vermeiden. Goldlegierungen mit 10—20 Proz. Pt sind vielen Schmelzen gegenüber mindestens so beständig wie reines Pt. Pr.

Hampel, J.-Brüx, **Der Verlauf der Frittungsvorgänge in Kupferpulvern, verfolgt durch das Adsorptionsvermögen gegenüber gelösten Farbstoffen.** (Z. Elektrochem. **48**, 82, 1942.)

In Fortsetzung gemeinsamer Arbeiten mit G. F. Hüttig wurde Kupferpulver in einer H_2-Atmosphäre erhitzt und denn in wässerige Lösungen von Methylenblau, Rhodamin oder Eosin oder in eine methylalkoholische Lösung von Kongorot (die sich durch besondere Haltbarkeit auszeichnet) gebracht und die adsorbierte Menge festgestellt. Die nach verschiedenen Vorerhitzungen erhaltenen Adsorptionskurven sind bei den verschiedenen Farbstoffen sehr ähnlich. Der Hauptunterschied besteht bei der niedrigen Vorerhitzung von 200° C bei dem molekulardispersen Eosin und dem kolloiddispersen Kongorot. Über den Wert des Verfahrens sagt Hampel, es sei nicht besonders empfindlich. Wegen der nivellierenden Eigenschaften der Lösemittel werden Aktivierungsvorgänge oft nur stark gedämpft angezeigt. Der Effekt stellt Überlagerungen der vom chemischen Potential („Güte" der adsorbierenden Stellen) und der chemischen Kapazität („Anzahl" der adsorbierenden Stellen, d. h. im allgemeinen proportional der Oberflächengröße) ausgehenden Wirkung dar. Zur Erfassung dieser Verhältnisse eignet sich die Farbstoffeinwirkung, welche sich anscheinend nur auf die Oberfläche beschränkt. R. E. Lg.

c) Ton, Zement, Glas, Kohle, anorganische Farbstoffe.

Beyersdorfer, P., **Zur Kenntnis des Einflusses der Wärmevergangenheit auf die Wärmedehnung und der Vorgänge beim Abkühlen und Wiedererwärmen des Glases.** (Glastechn. Ber. **20**, 129, 1942.)

Der letzte Abschnitt des Aufsatzes ist „Glas als Kolloid" überschrieben. Stütze dafür soll eine angebliche „rhythmische Kristallisation von Kupfer in Aventuringlas" sein, die mit der Silberchromatbänderung in Gallerten verglichen wird. [In Wirklichkeit handelt es sich aber um die bei der Abkühlung erfolgte Fixierung von Wirbeln, die beim Erhitzen des Inhalts des kleinen Tiegels entstanden waren. Die Wirbelbewegung hat die Kristallite geordnet. In

ganz andersartigen Schmelzen hat der Berichterstatter genau gleiche Anordnungen beobachtet. Statt der Kristallite wurden darin andere Unhomogenitäten gewirbelt, d. h. an der Peripherie Aufstieg, im Innern Absenkung.] R. E. Lg.

f) Gerberei.

Küntzel, A., und O. Laastad-Darmstadt, **Chromgerbung unter Verwendung von Verbindungen des zweiwertigen Chroms.** (Collegium **1942**, Nr. 865, 169.

Eine unmittelbare Gerbung tritt nicht ein. Sie erfolgt aber, wenn die mit Chromosalzen durchtränkte Haut (als Analogon zur Küpenfärbung) der Oxydation an der Luft zugänglich wird. Das Leder zeichnet sich durch sehr große Weichheit und guten ledrigen Griff aus. Leichte Oxydierbarkeit der Lösungen und hoher Preis stehen der Verwendbarkeit in der Praxis entgegen. R. E. Lg.

k) Seifen, Öle, Harze, Schmiermittel, Reinigungsmittel, Anstrichfarben usw.

Heidebroek, E.-Dresden, **Untersuchungen über den Schmierzustand in der Grenzreibung.** (Angew. Chem. **54**, 85, 1941.)

Untersuchungen über Schmiermittelfilme zwischen Walz- und Gleitflächen in so geringer Dicke (1 μ), daß die hydrodynamische Gleittheorie nicht mehr ausreicht. Das außerordentlich starke Haften der Ölmoleküle an der Oberfläche verhindert zwar noch eine metallische Berührung, aber es macht sich der Einfluß der Orientierung der Moleküle bemerkbar. Die hierauf bezogenen Messungen lassen sich in Übereinstimmung bringen mit den Vorstellungen von der quasikristallinen Struktur zäher Flüssigkeiten, welche Debey u. a. entwickelt haben. Der festgestellte „Kontaktzustand in angedrückten Grenzschichten" läßt sich jedenfalls als ein Zustand fixierter Struktur deuten. R. E. Lg.

q) Kunststoffe.

Clay, R. T., **Kautschukverwendung im Flugzeugbau.** (India Rubber Wld. **104**, 32, 1941.)

Kurze Übersicht über die Anwendung von Kautschuk im Flugzeugbau, wie z. B. zu Isolierungen. Besonders wird die Anwendung zur Herstellung beschußsicherer Treibstofftanks erwähnt und erläutert. Eine Naturkautschukschicht befindet sich zwischen 2 treibstoffesten Kunstkautschukfolien innerhalb des Metalltankes. Bei Durchschuß liegt der Weg für den sich innerhalb dieser Kautschukblase befindlichen Treibstoff zum Naturkautschuk frei, der dann sogleich quillt und so das Loch wieder verschließt. Ueberreiter.

Young, G. H., G. W. Gerhardt, W. K. Schneider und G. W. Seagren, **Filmbeständigkeit von Kunstharzüberzügen. Beschleunigte Beständigkeitsprüfung.** (Ind. Engng. Chem. **33**, 72, 1941.)

Die vom Film bedeckte Metallplatte wird als Elektrode in eine elektrolytische Zelle gehängt, deren 2. Elektrode ein Platinblech ist. Es fließt daher erst Strom, wenn die Lackschicht porös geworden ist, umgekehrt kann aus der Strommenge auf die Schichtdicke geschlossen werden. Nimmt man die Strom/Zeitkurve bei gegebener Spannung auf, so hat man in der Größe des Stromanstieges ein Maß für die Oberflächenbeständigkeit. Ueberreiter.

Young, G. H., G. W. Gerhardt, W. K. Schneider und G. W. Seagren, **Filmbeständigkeit synthetischer Harzüberzüge.** (Ind. Engng. Chem., Ind. Edit. **33**, 550, 1941.)

Mit der von den Verff. entwickelten elekrolytischen Filmbeständigkeitsprüfmethode werden Nitrozellulose und Alkydlackfilme untersucht und festgestellt, daß bei anfänglich dichtem Film die Zerstörungszeit der Schichtdicke proportional ist, andererseits wird die Zerstörungszeitdauer durch Zufügung nicht filmbildender Weichmacher stark herabgesetzt. Ueberreiter.

Patent-Teil.

Neuere Patente über Pflanzenschutzmittel auf Grundlage von Erdölkohlenwasserstoffen, Nikotin, Pyrethrum usw. vom kolloidchemischen Standpunkt aus.

Von Dr.-Ing. Bruno Waeser (Strausberg bei Berlin).

(Eingegangen am 30. Mai 1942)

Es gibt kaum ein zweites Gebiet der angewandten Chemie, auf dem die Frage der kolloidal feinen Verteilung, der innigen Emulgierung, der Absetzgeschwindigkeit bzw. der Schwebefähigkeit von derart einschneidender Bedeutung, ja oft für den Enderfolg so absolut entscheidend ist, wie dasjenige, das obige Überschrift kennzeichnet. Wenn man sich daran erinnert, daß Emulsionen aus Erdölkohlenwasserstoffen in Wasser oder in wässerigen Flüssigkeiten aus winzig feinsten Tröpfchen bestehen, die je nach ihrem Verwendungszweck die Aufgabe haben, z. B. in Winterruhe liegende Pflanzenteile mit einem Schutzfilm zu umkleiden oder in die Tracheen der Schädlinge einzudringen, dann wird klar, daß von einem guten Erzeugnis häufig einander entgegengesetzte Eigenschaften insofern verlangt werden müssen, als die Emulsion beim Spritzen noch völlig stabil sein muß, um sich unter Umständen auf dem Schädling sofort zu winzigsten Tröpfchen aufzulösen, die allein eine genügende Eindringung gewährleisten. Da zudem noch zugesetzte Haftfähigkeits- und Netzmittel von Einfluß sind, vermehrt sich die Zahl der wichtigen Wirkungsfaktoren weiter. Das Bild wird schließlich noch bunter, wenn man überlegt, daß mit den Emulsionen nicht selten chemisch wirksame Stoffe Anwendung finden sollen, die in manchen Fällen kaum oder nicht öllöslich sind. Diese Tatsachen machen es erklärlich, weshalb das Patentschrifttum auf den hier kurz zu streifenden Sondergebieten so sehr ausgedehnt ist und weshalb sich nicht selten Patente finden, die

tatsächlich nur in, dem Nichtfachkenner fast abwegig erscheinenden Kleinigkeiten kennzeichnende Unterschied aufweisen. Es erweist sich unter solchen Verhältnissen und Umständen fast als unmöglich, selbst die Patente nur weniger Jahre so streng klassifizieren zu können, wie es bei den anorganischen[1]) Pflanzenschädlings-Bekämpfungsmitteln ungezwungen und bei den entsprechenden organischen[2]) Präparaten immerhin noch einigermaßen geschehen kann.

Erdölemulsionen und Ähnliches.

Die Tide Water Assoc. Oil Co. (USAP. 2099894/1935) emulgiert Kohlenwasserstofföle mit Hilfe der Samenpreßsäfte von Telfairia pedata. Gabriel (Österr. P. 151988/1936) verwendet Galle und Fette oder Naphthensäuren als Zusätze, während Feytaud (Franz. P. 808632 und 48071/1936) feinstgemahlene Metallsalze mittels Sulfonaten in Ölen verteilt. Die Emulsoids Inc. (USAP. 2103196/1935) schlägt paraffinische Mineralöle (Viskosität 40 bis 80 Sekunden Saybold bei 38,5°) mit Naphthensäuren und öllöslichen Emulgatoren vor. West und Dodd (Brit. P. 489372/1936) unterstützen die Feinverteilung durch 10 Proz. Oxalkylaminsalze eines Einwirkungsprodukts von Schwefelsäure auf polymerisierte Fettsäuren (Ricinol, Dioxystearin) oder polymerisierte Naphthensäuren. Die Standard Oil Co. (Adams) behandelt gemäß USAP. 2115380/1934 gereinigte Petroleumdestillate (Viskosität 40—110 Sekunden Saybold bei 38,5°) mit konzentrierter Schwefelsäure und fügt öllösliche Aluminiumseifen eines sulfonierten Mineralöls (0,1—5 Proz.) sowie Glyzerinoleat als Emulgator bei. In einem späteren Patent (USAP. 2124782/1933) geht die bereits erwähnte Emulsoids Inc. von einem Mineralöl mit einer Viskosität von 40—90 Sekunden Saybold bei 38,5° aus, das 80 bis 100 Proz. unsulfonierbare Anteile enthält (z. B. Petroleum-Weißöl), und das mit einem Gemisch öllöslicher Emulgatoren aus Estern von Polyoxyverbindungen und höhermolekularen organischen Säuren (Glykololeat oder -naphthenat) versetzt ist. Jenet (Belg. P. 425657/1938) setzt Gemische aus schwerem Kreosot, leichten Naphthaölen, Rohbenzol und entwässertem Steinkohlenteer gegen Holzschädlinge ein. Lindstaedt (USAP. 2158371/1930) stellt ein Pflanzenspritzmittel aus Kohlenwasserstofföl, sulfonierten Naphthensäuren, freien Naphthensäuren sowie Alkylazetat zusammen. Die California Spray Chem. Corp. (USAP. 2144808/1934) emulgiert gereinigte Mineralöle mit Seifen eines mehrwertigen Metalls, wie Aluminiumstearat. Um Mückenlarven abzutöten, ist nach Martin (USAP. 2141087/1937) eine Emulsion aus Wassergasteer, Talgseifen und Harz geeignet. Die Shell Development Co. (USAP. 2159611/1937) gibt den Mineralölen 1 bis 3 Proz. hochsaure Fischöle als Emulgatoren zu. Die Corporate Ind. Ltd. (Brit. P. 509275/1938) stellt ein Motteninsektizid aus Weißöl, Naphthalin, p-Dichlorbenzol und Lavendel her. Die Standard Oil Development Co. behauptet im USAP. 2174258/1934, diejenigen Kohlenwasserstoffe, die durch Spalthydrierung von Erdöldämpfen bei über 20 atü und etwa 480° gewonnen sind, zeichneten sich durch besondere Fungizidität aus. A. v. Sachs (DRP. 696393) bedient sich der Bitumen-Emulsionen gegen Wildschäden. Das USAP. 2202387/1938 (Giraudan-Delawanna) erachtet es für zweckmäßig, Insektizide aus 96,5 Proz. Mineralöldestillat, Kiefernöl, Rotenon oder dergleichen neben 2,25 Proz. Isopropylphenol bzw. -kresol, Butyl- oder Isobutylkresol usw. zusammenzumischen. Bringt man Petroleumdestillate mit ungefähr 0,5—5 Proz. eines Quecksilbersalzes in Gegenwart von Äthyl- oder Methylalkohol zur Reaktion, dann erzielt man nach Angaben von Armour & Co. im USAP. 2209905/1939 ein Mittel zur Unkrautzerstörung. Die Dow Chemical Co. verstärkt und stabilisiert die Wirkung von Pyrethrum, Rotenon oder dergleichen in Petroleumdestillaten durch Aryloxypolyalkylenätherchloride (USAP. 2210900/1939) und benutzt auch ungefähr 0,5 Proz. Dinitrophenole (-α-naphthol) für solche Zwecke (USAP. 2210894/1939). Die Atlantic Refining Co. (USAP. 2212519/1937) sulfuriert niedrig siedende Petroleum-Fraktionen, zieht mit Wasser aus, verwandelt mittels Löschkalk in die entsprechenden Kalziumsulfonate und überführt diese durch Nikotinsulfat in Nikotinsulfonat. Die I. G. Farbenindustrie A. G. (DRP. 700615/1938) gibt Mineralöl-Emulsionen gesättigte, aromatische Disulfide, wie Phenylsulfid oder β-Naphthyldisulfid, zu. Nach Kohlhardt (DRP. 700773/1937) sind bei 100 bis 300° siedende Braunkohlenteerfraktionen mit mindestens 2 Proz. gebundenem Schwefel gegen Dasselfliegen wirksam. Im USAP. 2222109/1936 modifiziert Lindstaedt sein früheres Rezept eines ölhaltigen, insektiziden Spritzmittels, indem er jetzt von Mineralöl mit 2,4-Dinitroortho-6-cyclohexylphenol, Fischöl, Naphthensäuren und sulfonierten Naphthensäuren ausgeht. Das DRP. 704655/1935 der Schering A. G. färbt Karbolineum-Emulsionen oder dergleichen durch Indikatoren, die ganz oder zum Teil in die wässerige Phase übergehen, wie Bromphenolblau, Lackmus, Neutralrot, Phenolphthalein usw. Die California Spray-Chemical Corp. (USAP. 2214326/1938) stellt Leimringmassen unter Schutz, die aus nicht-trocknenden, klebrigen Ölen aus polymeren, viskosen Olefinen, Wachs oder Metallseifen bestehen, die bei 100—110° innig gemischt werden. Das USAP. 2221772/1938 (Frank App.) hält wässerige Emulsionen solcher sehr reinen, niedrigsiedenden Petroleumfraktionen für bestgeeignet, die bei 38,5° eine Saybold-Viskosität von 32—50, einen Siedepunkt von 143—400° und einen unsulfonierbaren Rückstand von 85—96 Proz. aufweisen. Das DRP. 709716/1937 der Chem. Fabrik Stockhausen gibt ihren Obstbaumkarbolineum-Emulsionen wässerige Lösungen von Salzen des Kupfers mit sulfonierten fetten Ölen, Fetten, Fettsäuren oder dergleichen zu (besonders das Kupfersalz der H_2SO_4-Ester der Oxystearinsäure). Für Holzkonservierung sind nach Harvey (USAP. 2195413/1937) Gemische aus synthetischen, hydrierten Kreosoten und Steinkohlenteerprodukten besonders brauchbar.

Damit wenigstens die Arbeitsrichtung erkennbar wird, soll nunmehr ein gedrängter Überblick über diejenigen Erdölemulsionsmittel folgen, in denen die Wirksamkeit durch chemische Zusätze zumindest mitbestimmt wird. So verwenden das Kan. P. 308745 Petroleumspritzöle mit 0,01—0,1 Proz. Schwefel, das USAP. 1910684 Weißöl mit Schwefel und Kalk, das Kan. P. 343029 gereinigte Petroleumöle mit Löschkalk, das Ital. P. 306661 Petroleum, Teer und Kalk sowie endlich das USAP. 2068089 Schwefeldioxyd in Petroleum. — Das USAP. 1890158 mischt

[1]) Waeser, Kolloid-Z. 87, 105 (1939).
[2]) Waeser, Kolloid-Z. 94, 128 (1941).

Amine, Äthanolabkömmlinge und Fettsäuren bei. Das Schweiz. P. 166685 hat Petroleum-Leinöl-Präparate, das Franz. P. 779430 solche aus Kreosotöl mit Rizinusöl oder dergleichen, das USAP. 1949722 Ansätze aus viskosen Mineralölen und Fettsäureestern bzw. das Brit. P. 431126 Gemische aus Mineralöl, Äthyloleat oder dergleichen neben Organo-Quecksilber-Verbindungen oder Tetraalkylthiuromsulfiden zum Gegenstand. Weiter finden sich folgende Zubereitungen empfohlen: Mineralöle mit ungesättigten, fetten Ölen (Rapsöle) durch das Kan. P. 369389, Mineralöle, Fettsäuren und Ammoniakwasser im Ital. P. 308386, Petroleumdestillate mit Glyzeriden im USAP. 2127526, Petroleumöle mit polymerisiertem Fisch- oder Leinöl im USAP. 2134136, Mineralöle und Oleate, Stearate oder Naphthenate besonders des Aluminiums in den USAP. 2163560 und 2171598, Mineralöle, Fett(öl)säure, Alkohole (Glykol, Cyclohexanol usw.) und sulfonierte Ölsäure im USAP. 2165486 bzw. Mineralöle, Fettsäure, Äthanolamin, Türkischrotöl usw. durch das USAP. 2162904 sowie endlich Mineralöle, Glykolmonooleat und Aluminiumnaphthenat im USAP. 2190173. — Die Ung. P. 100499/102737 fügen dem Obstbaum-Karbolineum unter anderem Alkalithiokarbonate (0,1 Proz.), Merkaptan, organische Polysulfide usw. zu. Das USAP. 1877851 emulgiert Petroleumweißöle mit öllöslichen Sulfosäuren, das Österr. P. 136675 Petroleum mit Estern sulfonierter höherer Fettsäuren (palmkernölfettsaures oder ricinoloxäthansulfosaures Natrium) und das Franz. P. 842557 Mineralschmieröl mit öllöslichen Alkalisalzen einer Sulfosäure sowie Nitroverbindungen von Phenolen, Kresolen. Thiophenolen oder Thiokresolen (z. B. 4,6-Dinitro-o-kresol); das USAP. 2233407 verwendet direkt halogenierte Petroleumdestillate (Siedepunkte 170—300°) nach Kondensierung mit Phenol, Kresol oder dergleichen und Teilsulfonierung. Austr. P. 22664, Franz. P. 798734 und Brit. P. 469879 gehen von Mineralölen, öllöslichen Alkalipetroleumsulfonaten sowie Alkoholen, Aldehyden und Ketonen aus. — Das Kan. P. 349144 arbeitet mit Zusätzen aus öllöslichen Alkylestern mehrwertiger Alkohole, das Ital. P. 297555 mit Petroleum-Kampfer, das Ital. P. 295788 mit Petroleum-Eukalyptusöl und das USAP. 2096947 mit hochmolekularen Alkoholen (0,2 bis 10 Proz.) mit wenigstens 12 C-Atomen in Petroleum. — Die Mitverwendung von Pyrethrum kann vorteilhaft sein, wobei ferner ätherische Öle (Brit. P. 390971) oder lichtstabilisierende substituierte Aminoanthrachinone, wie 1,4-Toluidoanthrachinon (USAP. 2011428), bzw. Diäthylenglykolmonoäthylätherazetate (USAP. 2089766, 2089767) bzw. substituierte Arylverbindungen mit Amino- und Hydroxyl-Gruppen (Kan. P. 365361) bzw. substituierte aromatische Körper mit 2(OH)-Gruppen oder 1 NH_2- oder Alkylrest (Kan. P. 369390) bzw. endlich Thiodiarylamine, wie Thiodiophenyl- oder Thiophenylnaphthylamin (USAP. 2202148), zugesetzt werden können. Das USAP. 2042296 benutzt Rotenon in viskosen Petroleumölen mit Arylalkyläthern. Nach DRP. (Zweigstelle Österreich) 157823 besteht ein Mittel gegen Pflanzenschädlinge und Pilzkrankheiten aus gelöster roher Tallölseife, Tabakextrakt, Nikotin und Petroleum. — Zwecks Herstellung von Insektofungiziden benutzt das Kan. P. 280343 pektinhaltige Mineralölemulsionen, während das Kan. P. 305502 organische Säuren von Petroleumschmierölen als Unkrautvertilger vorschlägt. Gemäß USAP. 1948551 bestehen Holzimprägniermittel aus Kreosot, Petroleumölen, Diphenylamin und Arsentrichlorid. Das Franz. P. 755822 bezieht sich auf Mineralöle mit fliegentötenden Chemikalien. Das USAP. 1976780 emulgiert Weißöl mit Wachsen und Triäthanolamin. Das USAP. 2044010 setzt Petroleumfraktionen Pentachlorderivate von Diphenyl oder Diphenyloxyd sowie Alkalikaseinat zu. Das Ital. P. 287297 arbeitet mit Mineralölen und Naphthalinpulver, das USAP. 2022246 mit Mineralölen und Latex, das USAP. 2155630 mit Mineralöldestillaten, hydriertem Kautschuk, polymerisierten Isobutylen oder dergleichen und das DRP. 686496 mit Zusatz solcher öllöslicher Dinitrophenole, die aliphatische Seitenketten von mehr als einem Kohlenstoffatom umfassen. Die USAP. 2182080/2182081 wollen Holz durch harzhaltige Lösungen von Tetra- oder Pentachlorphenol in siedenden Erdölfraktionen (Heizölen) imprägnieren.

Nikotin, Pyrethrum, Derris und Ähnliches.

Das Ital. P. 344312/1936 setzt Pyrethrum mit Quassiaholz, Koloquintenholz, Gelatine, Kochsalz, Knoblauch und Kalkwasser an (C. de Volpi). Kronenberg (Franz. P. 822112/1935) erzielt insektizide Nebel durch katalytische Verbrennung (über Metalloxyden) von Ölen, Fetten, Kohlenwasserstoffen mit Sauerstoff unter Zusatz von Pyrethrum, Nikotin usw. Im USAP. 2107058/1934 empfiehlt Markwood einen Nikotintorf. Saliaris (Franz. P. 829339/1937) verwendet in Derris-Suspensionen Emulgatoren mit aktiven Kationen, wie Lauryltrimethylammoniumchlorid oder er tränkt Kieselsäure- oder Tonerde-Gel oder dergleichen mit Lösungen von Derris in Tetrachlorkohlenstoff bzw. Azeton und verdampft dann das Lösungsmittel (Franz. P. 829338/1937). Die Tobacco By-Products & Chem. Corp. (USAP. 2120225/1936) baut ein hochwirksames Nikotinpräparat aus wasserfreiem Nikotin und wasserfreien, flüssigen Kohlenwasserstoffen (Siedepunkt über 200°) auf. Die Dean-Davies & Co. (Brit. P. 489198/1937) verwendet flüssige Pyrethrumextrakte gemeinsam mit sulfonierten, höheren Alkoholen (Laurylalkohol) und Zucker. Die bereits angeführte Tobacco By-Products Co. (Kan. P. 374905/1937) arbeitet u. a. auch mit möglichst wasserfreiem Nikotin in Leichtschmieröl und Kohlenwasserstoffen mit Kerosen. Zarine und de Gendre (Franz. P. 827851/1937) versprechen sich von den Formiaten, Laktaten oder Azetaten des Nikotins besondere Erfolge. Die Lunevale Prod. Co. (Brit. P. 492660/1937) empfiehlt komplexe Kupfernikotinverbindungen. Die Derris Inc. (USAP. 2126854/1934) verwendet Extrakte von Derris bzw. Cubewurzeln in Äthylazetat, Benzol, Azeton usw. mit wasserfreien Alkali- oder Erdalkalihydroxyden nach katalytischer Hydrierung über Nickel. Im Brit. P. 493074/1937 (Stefford Allen) wird vorgeschlagen, Pyrethrum-Azeton-Extrakte abzudestillieren und mit Methanol aufzunehmen. Bouillenne (Belg. P. 428133/1938) verwendet Rotenon in Kohlenwasserstoffen als Insektizide. Das Mittel von Hall (Austr. P. 105770) gegen Schmeißfliegen besteht aus Tran, Haifischöl, Sardinenöl, 1 Proz. feingemahlener Derriswurzel und 0,5 Proz. As_2O_3. Von der Schering A. G. (DRP. 671162/1931) werden Raupenbekämpfungsmittel aus (z. B.) Derris, Sabadillsamen und Talkum unter Schutz gestellt. Das USAP. 2158241/1936 von Marsico erstreckt sich auf Lösungen von Rotenon,

Pyrethrum oder Nikotin in Chloroform-Liniment (Chloroform und Kampfer), das USAP. 2152236/1936 von Batchelder auf Nikotintannat und das Brit. P. 503490(503507)/1937 auf Nikotinsäurehexylamid oder dergleichen. Die California Spray-Chemical Corp. (USAP. 2139340/1935) setzt feinstgemahlenes Tabakpulver mit schwachsaurem Erdöl, petrolsulfonsaurem Alkali und einer Spur Essigsäure an. Das Franz. P. 842394/1938 der Soc. Etabl. Dechosal betrifft die langsame Verbrennung von Derris, Chrysanthemumpräparaten usw. Nach de Kreij (Holl. P. 47818/1937) ist es angebracht, Tabakbrühen, Aluminium- und Alkaliseifen, Schwefel und Öl zu mischen. Motten bekämpft Canart (Franz. P. 849450/1938) mit Pyrethrumpulver, Naphthalin, Kampfer, Phenol usw. Von Boyce (USAP. 2191421/1937) rührt ein Stäubemittel aus Walnußschalenmehl, Rotenon- oder Pyrethrum-Extrakten her. Oelenheinz (DRP. 692210/1937) steigert die Wirkung von Tabaklaugen durch Vergärung mit Hilfe solcher Bakterien, die sich auf nikotinreichen Tabakblättern finden. Das USAP. 2207482/1937 von Ellis bezieht sich auf Insektofungizid und Germizid aus Tabakstaub, BaS, Rohphosphatmehl mit Stalldung oder Kompost. Eagleson (USAP. 2202145/1938) macht Extrakte von Pyrethrum, Rotenon, Nikotin usw. mit Fluorsilikaten, Arsensalzen, Schwefel und Sesamöl an. Die Dow Chemical Co. (USAP. 2207721/1939) versetzt Extrakte aus Pyrethrum oder Rotenon in Petroleumdestillaten, Benzin, Äthylenchlorid, Butylalkohol oder dergleichen mit 0,2—3 Proz. von Allyläthern[3]) oder 2-Chlorallyläthern eines Phenols. Saliaris (Franz. P. 857757/1939) extrahiert Nikotin, Rotenon, Pyrethrum usw. mit Hilfe von höheren Fettsäuren. Freyberg (Brit. P. 516703/1938) tränkt getrocknete Zuckerrüben mit Meerzwiebelauszügen. Gauchard (Franz. P. 849280/1938) desinfiziert mittels Glykol, Glyzerin, Strontiumsalzen, Pyrethrumextrakten und Phenolen. Die Pan Britannia Ind. Ltd. (Brit. P. 524714/1939) räuchert durch Dämpfe von verbrennenden Pappen, auf denen sich KNO_3-Lösungen, Nikotinöl, Naphthalinlösungen usw. befinden. Wirksamere Rotenonextrakte als bisher will de Domenico (Franz. P. 858771/1939) dadurch erzielen, daß er mit Gemischen aus 70—80 Proz. Methanol oder Äthanol und 20—30 Proz. Äthylazetat arbeitet. Die Monsanto Chem. Co. (USAP. 2232662/1938) verspricht sich besondere Erfolge von Nikotintridezylbenzolsulfonaten und ähnlichen Körpern, die Nikotin sehr langsam abgeben. Seitens der E. I. Du Pont de Nemours Co. (Brit. P. 528516/1939) und Guy (USAP. 2227496/1938) wird einer Verwendung von Thiuramsulfiden als Zusatz zu Pyrethrum oder Rotenon das Wort geredet.

Die Permutit Co. (USAP. 2226384) überführt Kohle, Lignit usw. durch wasserentziehende Mittel (H_2SO_4) in granulierte, kohlenstoffhaltige, zeolithartige Ionenaustauscher, die mit Lösungen von Nikotinsulfat oder Tabakextrakten beladen werden. Die Sandoz A. G. (Franz. P. 863728/1940) stellt Glukoside aus roten Meerzwiebeln durch mit Wasser nicht mischbare Lösungsmittel her. Das USAP. 2222968/1935 der Monsanto Chem. Co. hat Insektizide aus wasserunlöslichen Reaktionsprodukten von Nikotin mit alkylierten Phenolen (Amylphenol usw.) in Weißöl zum Gegenstand. Nach USAP. 2228096/1938 (Du Pont) mischt man gemahlene Tabakrippen (nicht über 1,25 Proz. Nikotin) mit flüssigen organischen Thiozyanaten (besonders Dodezylthiozyanate) und Bentonit. Hively (USAP. 2223367/1939) zerkleinert und mahlt Tabakpflanzen, extrahiert bei 93—150° und gibt etwa 1 Proz. β-Butoxy-β-prim.-thiocyandiäthyläther hinzu. Nach Behauptungen der Phytochimie Soc. Anon. (DRP. 710774/1939) läßt sich die Wirksamkeit aller Rohdrogen dadurch um 50 Proz. steigern, daß man sie mit Tetrachlorkohlenstoff in Anwesenheit von Phosphorsäure und (oder) Ameisensäure extrahiert. Franz. P. 806975/1936 sowie Ital. P. 357053/1937 endlich betreffen Giftköder aus Hanfsamen, Fleischmehl, Blut, Anis, Fenchel, Coriander und Sirup (Soc. des Etabl. Sucracote, Soc. Anon.).

[3]) Das Brit. P. 518195/1938 ersetzt diese durch 1—5 Proz. eines Oxyalkyläthers oder Alkyl- bzw. Cycloalkylphenol.

Zum sechzigsten Geburtstag von Hans Schmidt.

Am 31. August begeht Prof. Dr. Hans Schmidt, Leiter des Instituts für experimentelle Therapie „E. von Behring" und Professor der Immunitätslehre an der Universität Marburg seinen 60. Geburtstag. Hans Schmidt kam von den Naturwissenschaften (Genf, Bonn) zur Medizin, die er in Freiburg studierte, dann als Arzt in Karlsruhe, London und Hamburg praktisch ausübte und die er heute in Marburg lehrt. Seine Forschungen umfassen ein weites Gebiet nicht nur der medizinischen Wissenschaften, obschon natürlich der Schwerpunkt seiner Arbeiten hier liegt, wie sein fast 1200 Seiten langes, überaus substanzreiches Hauptwerk „Grundlagen der spezifischen Therapie und Prophylaxe bakterieller Infektionskrankheiten" zeigt. Vielmehr hat Hans Schmidt auch auf kolloidchemischem Gebiet eine Reihe interessanter Arbeiten veröffentlicht, von denen die in Band **13** (1913), **24** (1919) und **26** (1920) vorliegender Zeitschrift erschienenen über die quantitativen Gesetzmäßigkeiten des kapillaren Aufstiegs von Flüssigkeiten wohl am bekanntesten geworden sind. Auch der Kolloid-Gesellschaft gehört Prof. Schmidt seit vielen Jahren als Mitglied an.

Kolloid-Zeitschrift und Kolloid-Gesellschaft wünschen Prof. Hans Schmidt Kraft und Freude zu noch vielen weiteren Jahren wissenschaftlicher Tätigkeit.

Verantwortlicher Schriftleiter: Prof. Dr. Wo. Ostwald in Leipzig. Für die Anzeigen verantwortlich: Anton-Georg Hüwet, Dresden-Bl. Verlag von Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig. Buchdruckerei Albert Hille, Dresden-N. — Pl. 5.